

1. MEDISINA PLANTO
IR - Perpustakaan Universitas Airlangga
2. GINGER -



LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2000

KKB
KK-2
615-323 39
Sad
k.

**KETERSEDIAAN HAYATI/-----PROFIL FARMAKOKINETIK-----KRISTAL
ETIL PARA METOKSI SINAMAT (EPMS) (ISOLAT BAHAN AKTIF
SERBUK RIMPANG KENCUR), PADA HEWAN COBA KELINCI**



Peneliti :
Drs. SADONO, Apt.
Drs. DIDIEK HASMONO, Apt., M.S.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga
SK Rektor Nomor : 4934/J03/PG/2000
Tanggal 13 Juni 2000
Nomor urut : 16

3000109013191

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Desember 2000



LEMBAGA PENELITIAN

1. Puslit Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
7. Puslit Olah Raga
8. Puslit Bioenergi
9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995246
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian	:	KETERSEDIAAN HAYATI / PROFIL FARMAKOKINETIK KRISTAL ETIL PARA METOKSI SINAMAT (EPMS) (ISOLAT BAHAN AKTIF SERBUK RIMPANG KENCUR), PADA HEWAN COBA KELINCI
b. Macam Penelitian	:	(<input checked="" type="checkbox"/>) Fundamental, () Terapan, () Pengembangan
c. Katagori Penelitian	:	(<input checked="" type="checkbox"/>) I () II () III
2. Kepala Proyek Penelitian		
a. Nama Lengkap dan Gelar	:	Sadono, Drs., Apt.
b. Jenis Kelamin	:	Laki-laki
c. Pangkat/Golongan dan NIP	:	Pembina Tingkat I (Gol IV/b) 130345905
d. Jabatan Sekarang	:	Staf Pengajar
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	:	Farmasi
f. Univ./Inst./Akademi	:	Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu Yang Diteliti	:	Obat Tradisional-Farmakokinetik-Farmasi
3. Jumlah Tim Peneliti	:	2 (dua) orang
4. Lokasi Penelitian	:	Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
5. Kerjasama dengan Instansi Lain		
a. Nama Instansi	:	-
b. Alamat	:	-
6. Jangka Waktu Penelitian	:	6 (enam) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan	:	Rp 3.000.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian		
a. Dilaksanakan Tanggal	:	15 Desember 2000
b. Hasil Penelitian	:	() Baik Sekali (X) Baik () Sedang () Kurang

Surabaya, 15 Desember 2000



Mengetahui/Mengesahkan :
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.
NIP. 130 701 125

RINGKASAN

- A. Judul penelitian : KETERSEDIAAN HAYATI/ PROFIL FARMAKOKINETIK SUSPENSI KRISTAL ETIL PARA METOKSI SINAMAT (= EPMS, ISOLAT BAHAN AKTIF RIMPANG KENCUR) PADA HEWAN COBA KELINCI, PER ORAL.
- Peneliti : Sadono dan Didik Hasmono
- Penulisan laporan : Desember, tahun 2000; 43 halaman.

B. Ringkasan :

Penelitian biofarmasi/ metabolisme bahan alam merupakan komponen penting pada tahapan preklinik ataupun klinik [Mulja HS,1997] dan 41 % kegagalan pengembangan bahan alam menjadi obat modern karena terlalu rendahnya bioavailabilitas [Lipper,1999]. Publikasi penelitian bioavailabilitas *Ginkgo biloba* sebagai ekstrak obat atau sediaan farmasi yang sudah banyak dipasarkan di negara-negara benua Eropa maupun benua lainnya baru dilakukan oleh Li CL dan Wong YY [1997] serta Biber A dan Koch E [1999]. Pada Pokjanas Tanaman Obat Indonesia (TOI) tahun 1993 banyak dilaporkan hasil penelitian fitokimia dan bioaktivitas preklinik rimpang kencur [Wahyo,1996] tetapi tidak diketemukan adanya penelitian bioavailabilitas rimpang kencur ataupun metabolitnya.

Kristal Etil para metoksi sinamat (EPMS) adalah hasil isolasi kandungan terbesar metabolit sekunder rimpang kencur dengan variasi 1.28-3 % dari berat serbuk rimpang kering dan telah diteliti mempunyai kasiat analgetika-antiinflamasi pada pemberian intra peritoneal [Triwindono,1994; Arif HA,1996; Ifansyah N,1996; Fuad HA,1997]. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat masyarakat awam yang menyatakan bahwa perasan/ hasil rebusan rimpang kencur dapat menghilangkan pegal linu/ capai, bengkak, rematik dan lainnya [Perhipba,1988]. Penelitian Mulja HS [1997] pada sel hepatosit tikus menunjukkan bahwa EPMS suatu ester fenolat akan mengalami biotransformasi menjadi Asam para metoksi sinamat (APMS) identik dengan ester asetosal yang dipakai per oral. Menurut Ganong [1991] dan Sulistia [1995], obat analgetika-antiinflamasi bersifat sistemik. Karenanya EPMS atau metabolitnya seharusnya dapat dideteksi bioavailabilitas/

parameter farmakokinetiknya. Sadono, Moegihardjo, T.Erawati [1999] tidak berhasil membuktikan adanya efek sistemik pemakaian rimpang kencur per cutan secara analisis spektrofotometri.

Dengan demikian tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan ketersediaan hayati/ profil farmakokinetik EPMS yang diperlukan untuk menunjang atau mengoreksi hasil-hasil penelitian sebelumnya dan dimasa depan diharapkan dapat dimasukkan sebagai salah satu cara uji pembakuan obat tradisional per oral, khususnya yang mengandung rimpang kencur.

Penelitian dilakukan pada 5 ekor hewan coba kelinci lokal dari daerah Batu, Malang. Pada setiap ekor kelinci diberikan suspensi EPMS dalam air : etanol (80 : 20) sebanyak 1 ml \approx 10 mg kristal EPMS/ kg berat badan, langsung kedalam lambung kelinci lewat *feeding tube* dan dicuci dengan aquadest kurang lebih 3 ml. Cuplikan darah diambil lewat vena marginal telinga kelinci pada interval waktu t= 0, 15, 30, 60, 90, 120, dan 180 menit setelah perlakuan. Analit dalam plasma diekstraksi dengan metanol pro HPLC dan dideteksi serta diukur kadarnya secara KCKT dengan eluen MeOH_{pro HPLC} : Aquabidest + asam fosfat (75 : 25) [Sadono, 1999]. Parameter farmakokinetik dihitung dengan rumus matematik yang sesuai [Gibaldi, 1984; Shargel, 1985, 1998].

Dari 35 cuplikan plasma darah dari 5 ekor kelinci dengan berat badan 2.4 – 3.0 kg pada t yang telah ditetapkan, tidak terdeteksi adanya EPMS tetapi terdeteksi dan terukur adanya APMS sebagai biotransformat EPMS. Hasil perhitungan parameter farmakokinetik pada kelinci I s/d V sebagai berikut: $t_{maks} = 15$ menit; t_{maks} rerata = 15 ± 0 menit; $C_{maks} = 1.89-9.63 \mu\text{g/ml}$; C_{maks} rerata = $5.5124 \pm 3.1564 \mu\text{g/ml}$ $t_{1/2 \text{ biol}} = 0.17-0.94 \text{ jam}^{-1}$; $t_{1/2 \text{ biol}}$ rerata = $0.672 \pm 0.315 \text{ jam}^{-1}$; $k_{el} = (1.23 - 2.0) \times 10^{-2} \text{ jam}^{-1}$; k_{el} rerata = $(1.71 \pm 0.29) \times 10^{-2} \text{ jam}^{-1}$; $AUC_{0-180} = 237.225-353.325 \mu\text{g-menit/ml}$; AUC_{0-180} rerata = $275.055 \pm 47.222 \mu\text{g-menit/ml}$

Validitas hasil perhitungan deviasi baku rerata parameter farmakokinetik AUC_{0-180} dan k_{el} menunjukkan angka < 20 %, dapat diartikan berada pada batas toleransi hasil analisis sampel biologik. Sedangkan parameter yang lain > angka 20 %, dapat diartikan tidak memenuhi ketentuan validitas.

Selanjutnya disarankan perlunya penelitian ketersediaan hayati serupa, khu

susnya untuk bahan-bahan obat yang mengandung EPMS dan juga untuk bahan obat tradisional yang lain, sebagai salah satu usaha peningkatan persyaratan pembakuan setara dengan obat modern. Untuk mendapatkan parameter farmakokinetik yang lebih sempurna, disarankan memperhatikan faktor keturunan dan jenis kelamin kelinci.

C. Identitas kelembagaan :

Peneliti adalah staf edukatif dari Laboratorium Preskripsi Formulasi dan Laboratorium Biofarmasetika-Farmakokinetik, Jurusan Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Penelitian dibiayai oleh Rektor Universitas Airlangga, Sumber Dana : DIK Suplemen 2000; Nomor SK Rektor : 4934/ J03/ PG/ 2000

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah s.w.t. karena atas berkat-NYA kami telah menyelesaikan penelitian ini, yang berjudul: Ketersediaan hayati / profil farmakokinetik suspensi kristal Etil Para Metoksi Sinamat (=EPMS, bahan aktif serbuk rimpang kencur) pada hewan coba kelinci, per oral.

Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Rektor Universitas Airlangga,
- Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga,
- Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga,
- Ketua Laboratorium Bersama Universitas Airlangga beserta staf,
- Kepala Laboratorium Preskripsi Formulasi Universitas Airlangga beserta staf,
- Kepala Laboratorium Biofarmasetika - Farmakokinetik Universitas Airlangga beserta staf,
- Tim Evaluasi proposal penelitian Lemlit Unair,
- KPP Lemlit Unair dan sejawat-sejawat farmasis yang berperan serta dalam seminar penelitian ini,
- dan Semua fihak

yang telah memberikan kepercayaan, memberikan dana, membantu terselesainya penelitian ini dan yang telah memberikan saran penyempurnaan laporan penelitian ini.

Semoga penelitian ini bermanfaat bagi fihak-fihak yang terkait dan bermanfaat bagi pengembangan penelitian selanjutnya.

Surabaya, 19 Desember 2000

Penyusun,

Sadono dan Didik Hasmono

DAFTAR ISI

	<i>halaman</i>
- Lembar identitas dan pengesahan ii
- Ringkasan iii
- Kata pengantar vi
- Daftar tabel viii
- Daftar gambar ix
- Daftar lampiran -
I. Pendahuluan 1
II. Tinjauan pustaka	
1. Aspek biofarmasetik produk obat dan ketersediaan hayati 4
2. Etil para metoksi sinamat (EPMS), Asam para metoksi sinamat (APMS) dan Asetosal : kasiat, karakteristik, struktur molekular, dosis pakai dan metabolisme 6
3. Binatang coba kelinci 10
4. Rekaveri dan <i>reject</i> data sampel biologik 10
5. Kualitas bahan dan uji mutu sediaan fitofarmaka 11
6. Ketersediaan hayati/ bioavailabilitas sediaan fitofarmaka 12
III. Tujuan dan manfaat penelitian	
1. Tujuan penelitian 13
2. Manfaat penelitian 13
IV. Metode penelitian	
1. Bahan, alat, instrumen, binatang coba 14
2. Pemilihan metode ekstraksi analit dalam plasma 15
3. Pembuatan kurva baku 15
4. Perlakuan pada hewan coba kelinci 16
5. Menghitung dosis pakai EPMS 17
6. Cara ekstraksi EPMS/ metabolit dalam plasma darah 17
V. Hasil dan pembahasan	
1. Hasil penelitian :	
1.1- Kurva baku 18
1.2.- Pengamatan dengan metoda KCKT 18
1.3.- Pengamatan sampel darah kelinci I-V setelah perlakuan dengan EPMS 19
2. Pembahasan 38
VI. Kesimpulan dan saran	
1. Kesimpulan 40
2. Saran 40
Daftar pustaka 41
Lampiran -

DAFTAR TABEL

	<i>halaman</i>
Tabel 1 : Contoh data pengamatan kadar vs area larutan dalam MeOH pro HPLC kristal EPMS dan APMS 18
Tabel 2 : Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci I 31
Tabel 3 : Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci II 32
Tabel 4 : Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci III 33
Tabel 5 : Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci IV 34
Tabel 6 : Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci V 35
Tabel 7 : Rekapitulasi dan rerata hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci I – V 36
Tabel 8 : Rekapitulasi dan rerata harga parameter farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah kelinci I – V 36

DAFTAR GAMBAR

	<i>halaman</i>
Gambar 1 : Kurva log kadar obat dalam darah vs waktu	5
Gambar 2 : Reaksi metabolisme EPMS yg mungkin terjadi sesuai strukturnya dibandingkan dengan Aspirin	8
Gambar 3 : Bagan metoda kerja/ perlakuan pada kelinci	16
Gambar 4 : Grafik regresi kurva baku EPMS dan APMS	18
Gambar 5 : Kromatogram larutan EPMS dan APMS	20
Gambar 6 : Kromatogram MeOH pro HPLC, plasma + MeOH dan rekaveri	21
Gambar 7: Kromatogram adisi sampel plasma + EPMS, APMS	22
Gambar 8 : Kromatogram sampel plasma kelinci I	23
Gambar 9 : Kromatogram sampel plasma kelinci II	24
Gambar 10: Kromatogram sampel plasma kelinci III	25
Gambar 11: Kromatogram sampel plasma kelinci IV	26
Gambar 12: Kromatogram sampel plasma kelinci V	27
Gambar 13: Kromatogram <i>overlay</i> plasma + MeOH dan rekaveri EPMS dan APMS	28
Gambar 14: Kromatogram <i>overlay</i> plasma + MeOH dan plasma kelinci V setelah perlakuan dengan EPMS	29
Gambar 15: Kromatogram <i>overlay</i> rekaveri EPMS, APMS dan plasma kelinci V setelah perlakuan	30
Gambar 16: Profil farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) / Grafik kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci I	31
Gambar 17: Profil farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) / Grafik kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci II	32
Gambar 18: Profil farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) / Grafik kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci III	33
Gambar 19: Profil farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) / Grafik kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci IV	34
Gambar 20: Profil farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) / Grafik kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci V	35
Gambar 21: Rekap profil farmakokinetik biotransformat EPMS / Grafik kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci I s/d V	37
Gambar 22: Rekap profil farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik rerata kadar obat dalam darah vs. waktu, kelinci I s/d V	37

I. PENDAHULUAN

Penelitian biofarmasi/ metabolisme bahan alam merupakan komponen penting pada tahapan preklinik ataupun klinik [Mulja HS, 1997] dan 41 % kegagalan pengembangan bahan alam menjadi obat modern karena terlalu rendahnya ketersediaan hayati (*bioavailabilitas*) [Lipper, 1999]. Penelitian pengaruh bahan obat alam terhadap farmakokinetik obat lain belum banyak dilakukan [Lukman H, 1999]. Meskipun demikian pada Pokjanas TOI 1993 banyak dilaporkan hasil penelitian fitokimia dan bi-oaktivitas preklinik rimpang kencur [Wahyo, 1996]

Informasi etnomedisin GTZ 1994 menyatakan bahwa rimpang kencur (*Kaempferia galanga L.*) sangat luas pemakaiannya [Wahyo, 1996]. Di Indonesia digunakan oleh perusahaan besar jamu pada urutan terbesar ketujuh setelah lengkuas, kedawung, cabe jama, lempuyang, jahe serta temulawak dengan kecenderungan peningkatan permintaan rata-rata 18.54 % per tahun [Yuhono, 1994]. Komposisi ramuan jamu yang beredar di kota Bandung menunjukkan bahwa setiap pabrik jamu menggunakan rimpang kencur pada satu atau beberapa jenis jamu produknya dengan takaran yang berbeda [Rosmulawati, 1994]. Ramuan yang mengandung kencur diindikasikan untuk obat luar (lokal atau topikal) dan obat dalam (per oral), sebagai antimikroba, antiperetika, menghilangkan rasa sakit (analgetika), menyembuhkan bengkak (anti-inflamasi), luka infeksi [Suswini, 1994], antirematika dan karminativa [Perhipba, 1988].

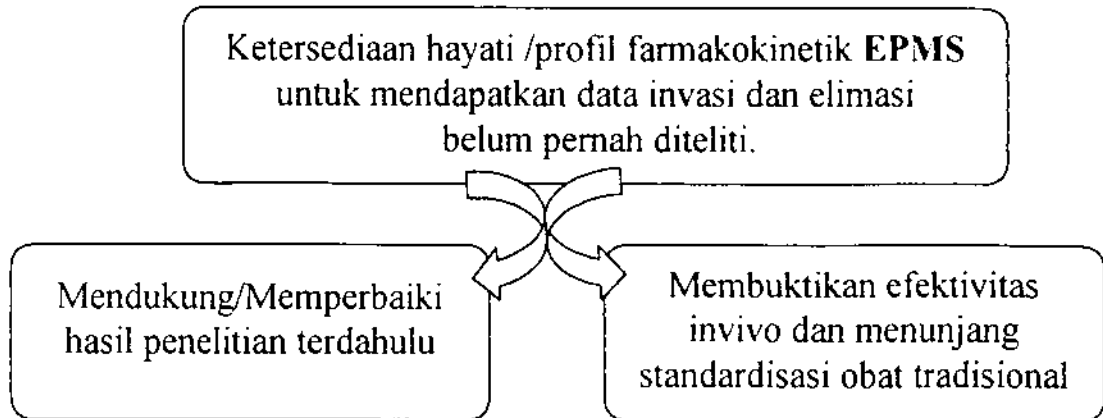
Etil Para-Metoksi Sinamat (EPMS) merupakan kandungan metabolit sekunder terbesar rimpang kencur (1,28 - 3% dari berat serbuk kering). Kristal EPMS murni dapat diisolasi dari serbuk rimpang kencur dengan bahan pengestraksi etanol dan hasil penelitian menunjukkan kasiat sebagai analgetika-antiinflamasi [Triwindono, 1994; Arif HA, 1996; Ifansyah N, 1996; Fuad HA, 1997]. EPMS merupakan ester berstruktur inti fenolat; pada penelitian dengan sel hapatosit tikus berindikasi sebagai *prodrug* dan mengalami biotrasformasi menjadi asam parametoksi sinamat (APMS) sehingga identik dengan asetosal yang berubah menjadi asam salisilat pada pemakaian per oral [Mulja HS, 1997].

Indikasi sebagai analgetika-antiinflamasi menunjukkan bahwa EPMS beredar sistemik jika ditinjau dari posisi *site of action* dan reseptor obat-obatan analgetika-antiinflamasi [Ganong,1991; Sulistia,1995]. Berbeda dengan senyawa sintetik turunan asetosal yang efektif sebagai antiinflamasi pada ekstremitas, kajian imunologi klinik dan data empirik bahan alam nabati menunjukkan adanya efektifitas pada organ dalam (antara lain hepar) [Soeprapto M, 1999; RS. Sjaiful A, 1997]. Terjadinya efek farmakologik-terapeutik dalam sistem sistemik suatu bahan aktif dari sediaan farmasi (*dosage form*) dapat diidentifikasi melalui proses-proses : farmasetik, farmakokinetik, farmakodinamik dan terapeutik. Ditinjau dari posisi kandungan bahan aktif dan komposisi multi komponen bahan kimia yang terdapat dalam tanaman atau bagian dari tanaman (semisal rimpang), maka tanaman atau bagian tanaman tersebut pada evaluasi biologiknya perlu disetarakan dengan sediaan farmasi. Proses farmakokinetik dipengaruhi oleh terjadinya proses invasi (absorpsi serta distribusi) dan terjadinya proses eliminasi (metabolisme/ biotransformasi atau ekskresi) dari bahan aktif dan dapat dikaji dengan cara mengukur kadar obat atau metabolitnya dalam darah atau urin karena kadar bahan aktif atau metabolitnya dalam darah adalah determinan kadar obat dalam *site of action* [Mutschler E, 1986; Smith, 1992].

EPMS sebagai metabolit sekunder pada rimpang kencur segar atau ramuan beras kencur dapat terukur kemampuan penembusannya pada membran difusi selofan dengan instrumen analisis spektrofotometer UV-VIS tetapi tidak terdeteksi mempunyai efek sistemik pada pemakaian per cutan [Sadono, Moegihardjo, Erawati T, 1999]. Penelitian Idayani (1991) berhasil mengukur Heksil Para Metoksi Sinamat (HPMS) dalam plasma darah kelinci dengan metoda KCKT, maka Sadono, dkk (1999) mensarankan agar analit EPMS atau APMS dalam plasma darah kelinci diukur dengan metoda KCKT sehingga dapat dilakukan penelitian ketersediaan hayati/ profil farmakokinetiknya (harga C_{maks} , t_{maks} dan AUC).

Dari hasil kajian tentang efektivitas metabolit sekunder rimpang kencur EPMS dengan indikasi analgetika-antiinflamasi, maka diperlukan adanya kajian lebih lanjut tentang ketersediaan hayati (*bioavailabilitas*)/ profil farmakokinetik EPMS pada hewan coba kelinci .

Karena EPMS adalah bahan aktif terbesar yang dikandung rimpang kencur segar atau simplisianya, penelitian ini diharapkan dapat menunjang usaha pembuktian efektifitas secara *invivo* dan memperkaya metoda standardisasi produk obat tradisional secara *invivo*, sesuai cita-cita CPOT.



II. TINJAUAN PUSTAKA

1. Aspek biofarmasetik produk obat dan ketersediaan hayati

Biofarmasetika adalah ilmu yang mempelajari hubungan sifat fisiko-kimia formulasi obat terhadap ketersediaan hayati (*bioavailability*). Ketersediaan hayati menyatakan kecepatan dan jumlah obat aktif yang mencapai sirkulasi sistemik dan mempengaruhi daya terapeutik, aktivitas klinik serta aktivitas toksik obat. Absorpsi sistemik suatu obat dari tempat ekstrasvaskular dipengaruhi oleh sifat-sifat anatomik serta fisiologi tempat absorpsi dan sifat-sifat fisiko-kimia produk obat [Shargel, 1985]. Ada 4 proses yang dialami obat untuk menghasilkan suatu terapi ialah 1. *proses farmasetik* yang mempertanyakan terjadinya liberasi bahan aktif dengan titik berat pada faktor-faktor yang terkait pada : Aspek tujuan direncanakannya formula (sistemik, lokal, dll), Aspek ketersediaan hayati yang dipengaruhi oleh sifat fisiko-kimia komponen penyusun (ukuran partikel kristal, kadar, jenis dan jumlah pembantu formula) dan Aspek teknologi formulasi (pengempaan tablet, uji disintegrasi, uji disolusi, dll.) 2. *proses farmakokinetik* yang mempertanyakan apakah obat sudah mencapai lokasi untuk bekerja, dengan titik berat kearah invasi (absorpsi, distribusi) dan eliminasi (metabolisme dan ekskresi) obat. 3. *proses farmakodinamik* yang mempertanyakan apakah obat sudah menghasilkan efek farmakologik seperti yang direncanakan. 4. *proses terapeutik* yang mempertanyakan apakah efek farmakologik mampu diubah menjadi efek terapi [Mutschler, 1991; Smith, 1992]. Ketersediaan hayati *buhan aktif* tercermin dari harga C_{maks} (kadar obat maksimum dalam darah), t_{maks} (waktu yang diperlukan untuk mencapai C_{maks}), AUC (area dibawah kadar obat dalam darah terhadap waktu) dan untuk *sediaan farmasi* tercermin dalam ketersediaan hayati relatif (perbandingan harga AUC masing-masing) [Mutschler, 1991; Smith, 1992; Lukman, 1999].

Menghitung aspek farmakokinetik perlu diperhatikan tentang order kinetik, interpretasi grafik kadar obat vs. waktu ($t_{1/2}$, V distribusi, *Clearance*) dan kinetik non linier [Smith, 1992]. Selanjutnya Gibaldi M (1984) dan Shargel I & Yu Andrew (1998) menuliskan :

a. *Tetapan laju eliminasi (k_{el}) :*

Kecepatan eliminasi untuk kebanyakan obat adalah order satu. Eliminasi obat dari kompartemen satu adalah merupakan hasil metabolisme dan ekskresi, jadi konstanta laju eliminasi (k_{el}) merupakan penjumlahan dari masing-masing proses tersebut :

$$k_{el} = k_m + k_e \quad \rightarrow \quad k_m = \text{laju proses metabolisme}$$

$$k_e = \text{laju proses ekskresi}$$

Tetapan laju eliminasi dapat diperoleh dengan cara sebagai berikut :

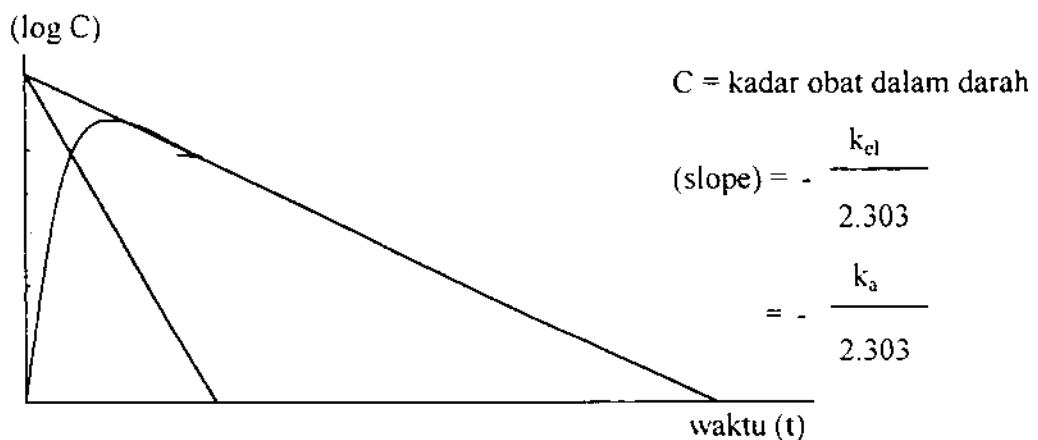
Dibuat kurva kadar obat dalam darah terhadap waktu pada grafik semi log. Data yang dipakai hanya pada saat fase eliminasi yaitu setelah kadar obat mencapai maksimum. Kemudian dilakukan regresi korelasi hingga diperoleh garis lurus dengan koefisien arah :

$$(\text{slope}) = - \frac{k_{el}}{2.303}$$

b. *Waktu paruh biologik ($t_{1/2\text{-biol}}$)*

Waktu paruh biologik adalah waktu yang diperlukan untuk untuk mencapai kadar obat dalam darah tinggal setengah kadar mula-mula. Harga $t_{1/2\text{-biol}}$ dapat diperoleh dari persamaan :

$$t_{1/2\text{-biol}} = \frac{0.693}{k_{el}}$$



Gambar 1 : Kurva log kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (jam)

c. *Luas daerah dibawah kurva (AUC)*

Luas daerah dibawah kurva menunjukkan jumlah kadar obat dalam darah selama jangka waktu tertentu. Penentuan luas daerah dibawah kurva interval waktu merupakan trapesoidal dan dapat dihitung sebagai berikut :

$$[AUC]_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_{n-1} + C_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

$C_n \rightarrow$ konsentrasi obat = n
 $t_n \rightarrow$ waktu pengamatan pada C_n

2. Etil para metoksi Sinamat (EPMS), Asam para metoksi sinamat (APMS) dan Asetosal : kasiat, karakteristik, struktur molekular, dosis pakai dan metabolisme.

Etil para metoksi sinamat (EPMS) dan Asam metoksi sinamat APMS pada rimpang kencur merupakan metabolit sekunder. Kandungan EPMS merupakan bagian terbesar dan dapat mencapai 1.28 - 3 % sedangkan APMS 0.052 - 0.75 % dari berat serbuk kering rimpang kencur. Kedua metabolit dapat diisolasi terpisah dan dapat dimurnikan dengan bantuan etanol [Ifansyah N, Fuad A, 1996, Didik, 1996 dan Shohim IM, 1996]. Kemurnian isolat ditunjang dengan hasil uji kemurnian secara kromatografi lapisan tipis, data spektra IR, spektra H^1 NMR dan spektra C^{13} NMR [Wahjo D, et al, 1996]. Sampai dengan penelitian dilakukan, belum diketemukan senyawa murni sebagai bahan acuan analisis [Sigma katalog, 1998].

EPMS hasil isolasi dari rimpang kencur berkasiat analgesik-antiinflamasi [Arief, 1989; Lucia et al, 1996; Ifansyah N, 1996; Triwindono, 1997; Mulja Hadi S, et al, 1997]. Menurut Ganong WF [1991] dan Sulistia [1995], obat dengan kasiat analgesik-antiinflamasi merupakan obat sistemik.

Dalam Farmakope China [PPRC, 1988; English edition] dicantumkan dosis pakai sehari serbuk kering rimpang kencur sebesar 6 – 9 gram untuk orang dewasa. Sedangkan Ghost MN [1971] menyatakan bahwa dosis obat untuk kelinci seberat 1.5 kg setara dengan 0.07 x dosis orang dewasa dengan berat badan 70 kg.

2.1. EPMS :

Struktur molekular (data NMR)

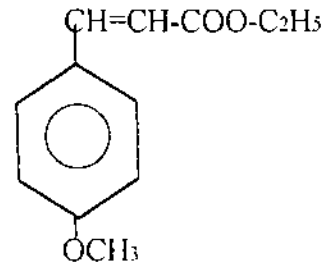
Larut dalam etanol

[Ifansjah N, Fuad A, 1996]

BM : 206

Rentang lebur 45-46° C

Titik lebur 45° C [Shoim I M, 1996]



2.2. APMS :

Struktur molekular (data NMR)

Larut dalam etanol

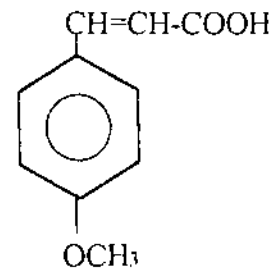
[Fuad A; 1996]

BM : 178

Rentang lebur 165-166° C

Titik lebur 165-166° C

[Shoim IM, 1996]



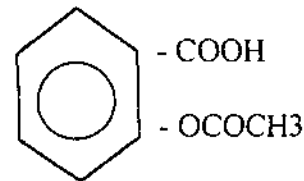
Metabolisme EPMS (Mulja HS, 1997):

Tertera pada gambar 1.

2.3. Asetosal

BM : 180.16; Stabil di udara; Hablur

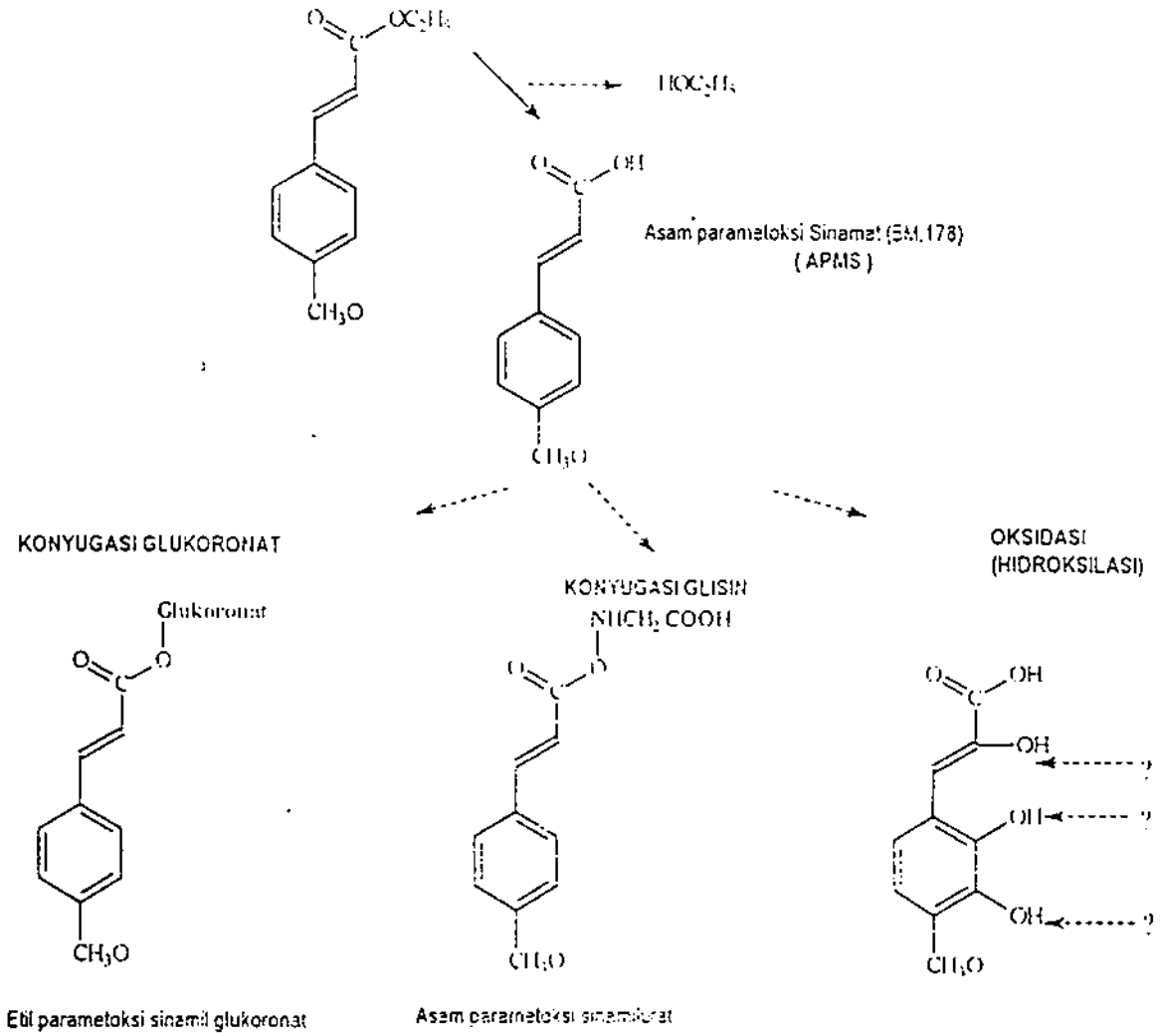
putih seperti jarum; Tidak berbau/ lemah;



Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, larut dalam kloroform dan eter [F.I. IV, 1995]. Larut 1:300 air, 1:5-7 etanol, 1:17 kloroform, 1:20 eter [Reynold J, 1982]; t_{1/2} biologik pada dosis 1 g per oral 4.7-9 jam, rata-rata 6 jam; pada dosis toksik (10-20 g) menjadi 22 jam. Kadar dalam plasma 15-30 mg/ 100ml

Metabolisme EPMS

Etil parametoksi Sinamat (BM 206)
(EPMS)



Gambar 2 : Reaksi metabolisme EPMS yang mungkin terjadi sesuai dengan strukturnya dibandingkan dengan aspirin [Mulja HS, 1997]

sebagai analgetika; 20–40 mg/ 100 ml sebagai antiinflamasi. Pada dosis terapi: 50–80 % terikat protein plasma [Gennaro AR Remington; 1995]. Konsentrasi asetosal dan asam salisilat ditemukan selama 8–12 jam sesudah pemakaian. Efek analgetik terjadi selama didapatkan bentuk aspirin yg. tak terhidrolisa dalam plasma, efek antiinflamasi selama didapatkan asam salisilat dalam plasma [Bell SA in Reynolds J; 1982] Asetosal dosis 65 mg sering efektif untuk mencegah nafas terengah-engah karena asma. [Clarke CA in Reynold J, 1982] Esterifikasi gugus hidroksil fenolik asam salisilat memperbaiki kerja sebagai analgetik, antipiretik dan antiflogistik. Dalam hati, setelah hidrolisis ester lebih lanjut, terbentuk ester glukuronida, eter glukuronida, glisinat dan sebagian kecil yang dioksidasi menjadi asam gentisinat [Mutschler E, 1991].

Biotransformasi : Asetosal mempunyai efek aktif farmakologik tanpa perlu diubah dulu menjadi asam salisilat. Dalam lambung asetosal diserap dalam bentuk aslinya dan sebagian dalam bentuk salisilat sebagai akibat terjadinya hidrolisa oleh asam lambung. Bentuk ester yang terabsorpsi akan dihidrolisa dengan cepat pada plasma, hepar dan eritrosit dan lebih lambat pada cairan sinovial. Dalam plasma asetosal dapat dideteksi dalam waktu pendek. Tigapuluh (30) menit setelah pemberian dosis 0.65 g, kadar dalam plasma 27 % dari jumlah kadar salisilat. Cepatnya hidrolisa menyebabkan kadar asetosal dalam plasma rendah dan jarang melebihi 2 mg % pada pemberian dosis terapi. Untuk mencapai 35–50 mg % (pengobatan demam rematik) diperlukan dosis 10 g per hari. Pada dosis terapi: 50–80 % terikat protein plasma antara lain albumin. Hipoalbuminia yang sering terjadi pada rematoid-artritis, diasosiasikan sebanding dengan kadar salisilat dalam plasma. Metabolisme asetosal terjadi di jaringan dan terutama di sistim mikrosomal hepar. Ada tiga metabolit utama ialah asam salisilat (konjugasi glisin), eter atau fenolik glukuronida dan ester atau asil glukuronida. Sebagian kecil dioksidasi menjadi asam gentisat, asam dihidroksi benzoat dan asam trihidroksi benzoat. [Goodman LS, Gilman A, 1970].

3. Binatang coba kelinci [*Ritschel, 1974*]

Data umum karakteristik binatang coba kelinci (*Oryctolagus coniculus*) sebagai berikut :

Life span = 8 tahun; Suhu badan 38.5-39.5°C; Laju respirasi 50-60/ menit; Tekanan darah 110/ 80 S/D; Volume darah = 5 % dari berat badan kelinci.

Maksimum volume cairan (ml) yang dapat dimasukkan kedalam tubuh kelinci dengan BB 2.5 kg adalah per I.V.= 5-10.0 ml; per I.M.=0.5 ml; per I.P = 10-20.0 ml; per S.C. 5-10.0 ml dan untuk per oral 20.0 ml.

Untuk pemakaian per oral (*langsung kedalam lambung*) dilakukan dengan alat *rubber catheter* setelah mulut kelinci diberi *mouth block* (sepotong kayu silindrikal dengan ukuran panjang 12 cm dan diameter 3 cm). *Rubber catheter* dimasukkan kedalam lambung sepanjang 20-25 cm. Untuk menghindari salah masuk kedalam *trachea*, masukkan ujung kateter kedalam gelas beker berisi air. Jika terjadi gelembung, berarti salah arah masuk. Setelah bahan percobaan dimasukkan, kateter dicuci dengan 3 ml air untuk memastikan bahwa semua bahan telah masuk kedalam lambung.

Pengambilan sampel darah dilakukan lewat vena marginal telinga dengan jarum berukuran 26 *gauge*. Sebelum jarum dimasukkan, perlu digosokkan kapas yang mengandung *Xylo*l kedaerah vena yang dituju.

4. Rekaveri dan *reject* data sampel biologik

Rekaveri

Batas toleransi sampel biologis : 80 – 120 % (USP XXIII)

Reject data sampel biologik

Menurut Farmakope Indonesia IV [p. 864]

$$\text{Untuk jumlah sampel 3 s/d 7 : } G_1 = \frac{(y_2 - y_1)}{(y_{N-1} - y_1)}$$

Menyimpang untuk sampel $N = 6 \rightarrow G_1 = 0.644$

5. Kualitas bahan dan uji mutu sediaan fitofarmaka.

Persyaratan umum, cara identifikasi dan kegunaan bahan tanaman atau metabolit/ sekret dari tanaman atau bagian dari tanaman yang digunakan untuk obat yang beredar di Indonesia dicantumkan dalam buku *Materia Medika Indonesia* yang penerbitannya bertahap. Uji mutu yang tercantum lebih banyak bersifat kualitatif dan kuantitatif–standardisasi terhadap beberapa kandungan yang dominan. (MMI, jilid I, 1997, dan seterusnya). Identifikasi/ deteksi terhadap kandungan bahan kandungan belum menjamin bahwa kandungan tersebut yang aktif secara *invivo* [Biber A dan Koch E, 1999].

Seharusnya sediaan fitofarmaka wajib memenuhi persyaratan mutu obat modern ialah : aman, efektifitas, aseptabel dan stabil, dimana persyaratan tersebut dapat diuji secara kuantitatif menurut kriteria yang ditentukan. Aman diartikan sebagai tidak adanya perubahan bermakna dari toksisitas bahan aktif yang mungkin terjadi karena reaksi fisika-kimia antar komponen penyusun formula, proses produksi maupun proses penyimpanan, yang secara praktis lewat uji terdeteksinya hasil urai bahan aktif. Efektifitas diartikan sebagai tersedianya bahan berstruktur aktif dalam tempat kerja yang siap bereaksi dengan reseptor dalam kekuatan dan lama reaksi yang telah diperhitungkan yang secara praktis lewat uji ketersediaan hayati. Aseptabel diartikan sebagai terpenuhinya tekstur dan performens/ daya tarik sediaan oleh konsumen, yang secara praktis lewat uji pemasaran. Stabil diartikan sebagai tidak terjadinya perubahan sediaan yang bermakna lewat uji secara fisika, kimia, farmasetik, mikrobiologik dan toksikologik [Ansel HC dan Popovich NG,1990]. Efek farmakologik-terapeutik bahan aktif dari sediaan farmasi diidentifikasi melalui 4 tahapan, ialah: tahap farmasetik, farmakokinetik, farmakodinamik dan terapeutik [Smith G dan Aronson JK,1992]. Efektivitas sediaan farmasi tahap farmasetik dipengaruhi oleh tersedianya jumlah kandungan bahan aktif dalam formula, pelepasan bahan aktif dari pembawa dan kemampuan komponen formula dalam mempengaruhi permeabilitas membran absorpsi [Martin A, et al, 1983, Smith G dan Aronson JK,1992]. Dosis pakai efektif diperlukan pada perencanaan formula yang tahap awalnya dapat diprediksi secara bio-

availabilitas [Ansel HC dan Popovich NG,1990] karena bahan aktif dalam darah adalah determinan kadar obat dalam lokasi kerja. [Smith G dan Aronson JK, 1992]

6. Ketersediaan hayati/ bioavailabilitas sediaan fitofarmaka.

Riset biofarmasi/ metabolisme bahan alam merupakan komponen penting pada tahap preklinik/ klinik [Mulja Hadi S, et al 1997], masih jarang dilakukan [Lukman, 1999] dan 41 % kegagalan pengembangan bahan alam menjadi obat modern karena rendahnya bioavailabilitas [Lipper,1999]. Ekstrak Ginkgo biloba (Tebokan) EGB 761 yang telah beredar di beberapa negara Eropa, pada awalnya dibakukan hanya terhadap kandungan Ginkgo flavon glikosida, disusul dengan pembakuannya terhadap kandungan terpene lakton (ginkgolida dan bilobalida) [Sticher O, 1993]. Bioavailabilitas per oral kandungan ginkgolida pada BioGinkgo 27/ 7 yang mengandung 27.0 % flavonoida dan 7.69 % lakton terhadap kontrol ekstrak Ginkgo biloba yang mengandung 24.95 % flavonoida dan 6.09 % terpen lakton, baru dilakukan oleh Li CL dan Wong YY [1997] dengan binatang coba kelinci. Sedangkan Biber A dan Koch E [1999] melakukan uji bioavailabilitas ginkgolida dan bilobalida yang terkandung dalam ekstrak Ginkgo biloba EGb.761[®] dengan binatang coba tikus. Kedua penelitian tersebut menggunakan parameter farmakokinetik dari data sampel plasma darah dengan hasil yang berbeda. Perbedaan hasil disebabkan karena metoda analisis yang berbeda dan tehnik penegertian parameter farmakokinetik yang berbeda [Biber A dan Koch E, 1999].



III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

1. Tujuan penelitian :

Untuk mendapatkan bukti terjadinya sirkulasi sistemik Etil para metoksi sinamat (EPMS) dan ketersediaan hayati/ profil farmakokinetik EPMS, suatu bahan aktif dalam komponen obat tradisional yang dinyatakan sebagai analgetika-anti-inflamasi.

2. Manfaat penelitian :

Hasil penelitian ketersediaan hayati/ profil farmakokinetik Etil para metoksi sinamat (EPMS) akan memberikan manfaat/ kontribusi informasi dalam :

1. Melengkapi atau mendukung hasil penelitian- penelitian sebelumnya tentang manfaat/ kasiat EPMS yang dinyatakan sebagai analgetika-antiinflamasi.
2. Menunjang usaha standardisasi obat tradisional/ komponen obat tradisional secara in vivo, khususnya dalam hal pembuktian efektivitas.

IV. METODE PENELITIAN

1. Bahan, Alat, Instrumen dan Hewan coba

1.1. Bahan

- a. Kristal Etil Para Metoksi Sinamat (EPMS) dan kristal Asam Para Metoksi Sinamat (APMS) ex Lab. Fitokimia FF UNAIR dengan pemurnian. Identifikasi berdasarkan Spektogram FTIR dan NMR.
- b. Metanol *pro HPLC*,
- c. Etanol *pa*, Eter *pa*, heparin, aquabidest.
- d. Injeksi spuit disposable,
- e. *Teflon membran filter*, Whatmann
- f. *Solid Phase Extraction (SPE) ODS-RP-18*

1.2. Alat & Instrumen

- a. *Vortex mixture (Thermoline)*,
- b. *Centrifuge*
- c. *Ultrasonix*
- d. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), *Perkin Elmer Model 1022* dilengkapi dengan *UV-VIS detector LC 295; Baseline treatment V to V; Area sensitivity 100; Base sensitivity 10; Skim sensitivity 10 %; End time 10.000 minutes.*

1.3. Hewan coba kelinci

Kelinci berasal dari peternakan di Batu Malang, Jatim. Warna bulu putih.

Kelinci ke :	Berat badan (kg)
I	2.5
II	2.4
III	2.5
IV	2.7
V	3.0

2. Pemilihan metoda ekstraksi analit dalam plasma

2.1. Pemilihan λ_{maks}

Instrumen KCKT yang dipakai untuk analisis dilengkapi dengan UV-VIS-Detektor. Dari instrumen spektrofotometer UV-VIS, serapan EPMS dan APMS dapat terpisahkan pada $\lambda = 308.0$ nm.

Untuk selanjutnya analisis dilakukan pada $\lambda = 308.0$ nm.

- 2.2. Ekstraksi dengan dimetil eter [Idayani, 1997], tidak diketemukan EPMS & APMS. Diduga karena analit tidak terlarut sempurna dalam eter.
- 2.3. Ekstraksi dengan SPE-RP 18 [Juniar S, 1996], tidak diketemukan APMS. Diduga karena APMS terlarut dalam air pencuci SPE.
- 2.4. Ekstraksi dengan metanol air. Setelah melalui proses ekstraksi secara *gradient*, didapatkan eluen yang sesuai = MeOH pro HPLC : Aquabidest (75 : 25). Untuk menghindari terjadinya ionisasi, ditambahkan asam fosfat pekat 1.64 ml untuk setiap 500 ml aquabidest.

3. Pembuatan kurva baku EPMS dan APMS

3.1. Larutan induk EPMS dengan kadar 5 ppm :

Larutan induk EPMS : ditimbang 0.005045 g kristal EPMS dan dilarutkan dalam 50.0 ml MeOH pro HPLC.

3.2. Larutan induk APMS dengan kadar 5 ppm :

Larutan induk APMS : ditimbang 0.005078 g kristal APMS dan dilarutkan dalam 50.0 ml MeOH pro HPLC.

3.3. Pengenceran larutan

Diambil sejumlah volume larutan induk dengan pipet volume, dimasukkan dalam labu ukur tertentu dan ditambahkan MeOH pro HPLC sampai dengan tanda, untuk mendapatkan larutan baku dengan kadar 0.1 ppm, 0.2 ppm, 0.3 ppm, 0.4 ppm, 0.5 ppm, 0.8 ppm, 1.0 ppm dan 2.0 ppm.

4. Perlakuan pada hewan coba kelinci

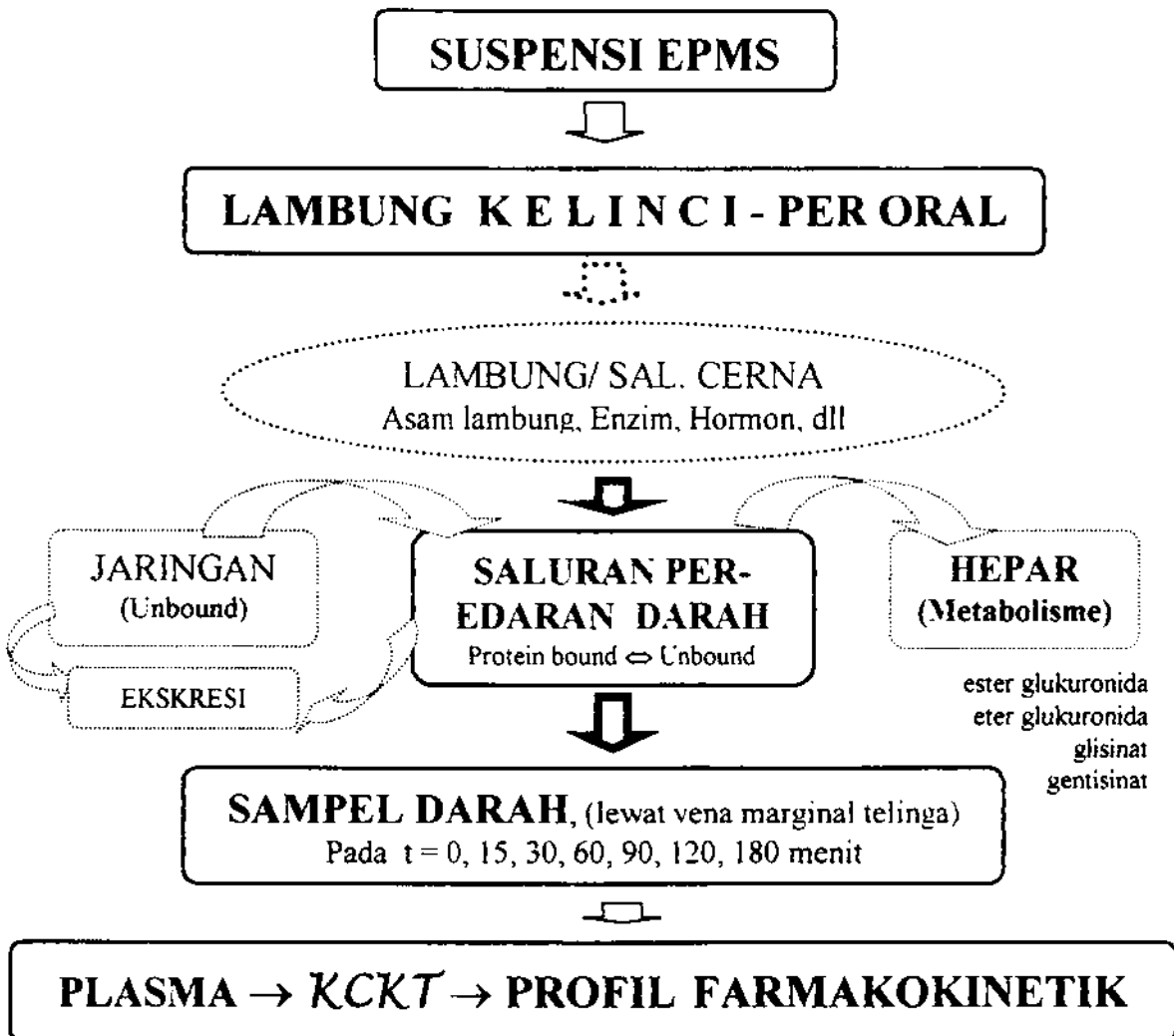
Kedalam lambung kelinci dimasukkan per oral lewat *maug slang feeding tube 0.8 FR*. suspensi kristal EPMS dalam EtOH : Air (20 : 80) sebanyak 10 mg EPMS/ kg BB kelinci.

Sampel darah diambil lewat vena marginal telinga pada interval waktu 0, 15, 30, 60, 90, 120 dan 180 menit

Kadar EPMS dalam plasma diekstraksi dengan MeOH pro HPLC dan ditentukan secara KCKT, eluen MeOH : Air (75 : 25) pada λ 308.0 nm

Data diolah menjadi faktor kesetaraan biologik/ profil farmakokinetik

Secara skematis tertera pada gambar __



Gambar 3 : Bagan metoda kerja

5. Menghitung dosis pakai EPMS

Ketentuan dalam *Fundamentals of experimental pharmacology* [Ghosh MN 1971] ekivalensi dosis pakai adalah 0.07 untuk kelinci berat badan 1.5 kg terhadap orang dewasa berat badan 70 kg.

Dosis pakai serbuk rimpang kencur kering (RKK) menurut *Ph. PRC* [1988] = 6 – 9 g, maka dosis pakai untuk penelitian pada binatang coba kelinci diperhitungkan sebagai berikut :

Dengan asumsi kandungan EPMS dalam rimpang kencur = 2.0 %, maka dalam 9 g RKK mengandung EPMS sebanyak $2.0/100 \times 9.000 \text{ mg} = 180 \text{ mg}$.

Untuk kelinci seberat 1.5 kg, dosis pakai = $0.07 \times 180 \text{ mg} = 12.6 \text{ mg}$, atau setara dengan 8. 40 mg/ kg BB kelinci.

Dalam penelitian digunakan dosis pakai 10 mg/ kg BB kelinci dengan pertimbangan tidak menyimpang jauh dari dosis pakai dan untuk mempertinggi kadar analit dalam darah

8. Cara ekstraksi dan pengukuran EPMS/ Metabolit dalam plasma darah

Plasma sebanyak 0.50 ml + MeOH pro HPLC 1.0 ml. Selanjutnya dilakukan proses pengadukan dengan vorteks selama 1 menit, ultrasonik selama 5 menit dan diakhiri dengan proses pengendapan secara sentrifusasi selama 5 menit pada 3200 rpm.

Kadar metabolit didapatkan dari fasa MeOH pro HPLC secara KCKT dengan alat KCKT *Perkin Elmer Model 1022* yang dilengkapi *UV-VIS detector LC 295*; dengan kondisi operasi : *Calculation type: %; Peak data: Area; Calibration sequence Number: 0; Data collection: End time 10.000 min; Narrowest peak 0.3-0.8 s; Peak width: automatic; Peak integration: Baseline treatment V to V; Area sensitivity 100; Base sensitivity 10; Skim sensitivity 10 %*; Kolom *Whatman RP-18 ODS 25 cm*, eluen MeOH : Aqua + asam fosfat (75 : 25); $\lambda = 308.0 \text{ nm}$; *injector 100 μl* .

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil penelitian

1.1. Kurva baku EPMS dan APMS dengan pelarut MeOH pro HPLC

Tabel : 1

Contoh data pengamatan kadar vs area larutan dalam MeOH pro HPLC kristal
EPMS dan APMS

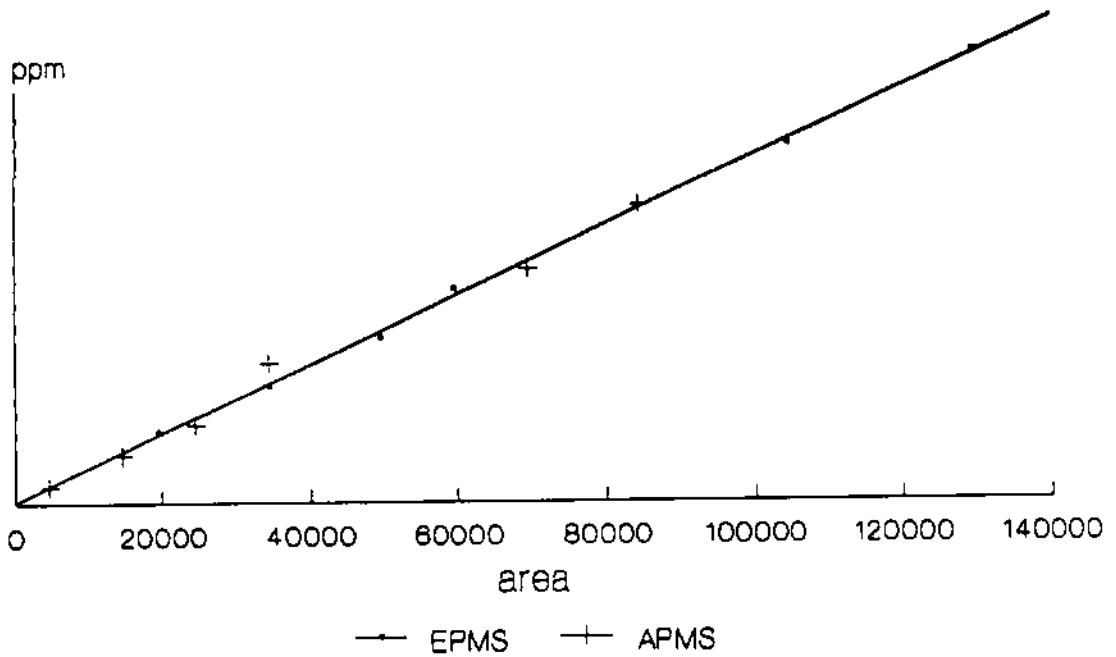
EPMS			APMS		
No.	Kadar	Area	No.	Kadar	Area
1	0.1 ppm	- *	1	0.1 ppm	8407
2	0.2 ppm	21762	2	0.2 ppm	13239
3	0.3 ppm	31237	3	0.3 ppm	22798
4	0.4 ppm	49130	4	0.4 ppm	12732 **
5	0.5 ppm	61613	5	0.5 ppm	35679
6	0.8 ppm	98759	6	0.8 ppm	62297
7	1.0 ppm	130953	7	1.0 ppm	90188

* Tidak terdeteksi

** reject

Persamaan regresi EPMS : $y = - 6875.1 x + 135845.2 \rightarrow r = 0.9985$

Persamaan regresi APMS : $y = - 4128.8 x + 88751.9 \rightarrow r = 0.9914$



Gambar 4 : Regresi kurva baku EPMS (●●●) dan APMS (---+)

1.2. Pengamatan EPMS dan APMS dengan metoda KCKT

Contoh kromatogram hasil pengamatan plasma darah dengan metoda KCKT memakai eluen MeOH : Aquabidest + asam fosfat (75:25) pada λ 308.0 nm (gambar 4 s/d gambar 14).

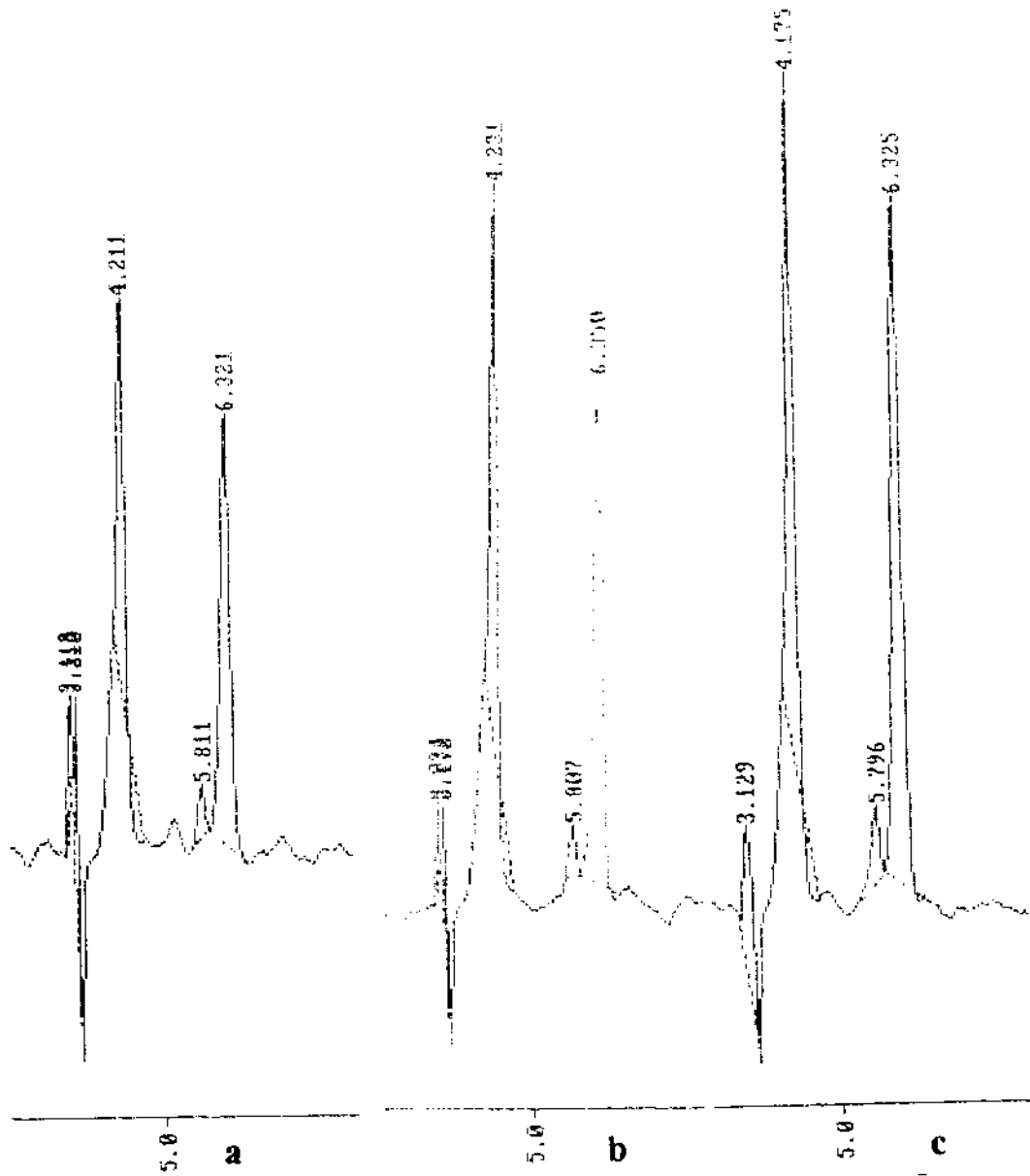
Pada gambar 4 = kromatogram 3 macam konsentrasi larutan EPMS + APMS dalam MeOH pro HPLC. MeOH pro HPLC memberikan 2 s/d 3 puncak pada RT 2.7 s/d 3.3; APMS memberikan 1 puncak pada RT 4.175 s/d 4.231; EPMS memberikan 1 puncak pada RT 6.321 s/d 6.350. Koefisien variasi (% SD) harga RT untuk metanol pro HPLC, APMS dan EPMS < 2 % (memenuhi persyaratan).

Pada gambar 5 = kromatogram rekaveri 2 konsentrasi larutan EPMS dan APMS yang telah diuapkan terlebih dulu dengan gas nitrogen. Plasma t=0 memberikan puncak pada RT s/d 3.567. Untuk beberapa plasma kelinci yang lain memberikan puncak lebih dari 1, misalnya pada RT \pm 3.5 pada RT \pm 6.2 dan RT \pm 7.6. APMS memberikan 1 puncak pada RT 4.14 s/d 4.41 dan EPMS memberikan 1 puncak pada RT 6.857 s/d 6.881.

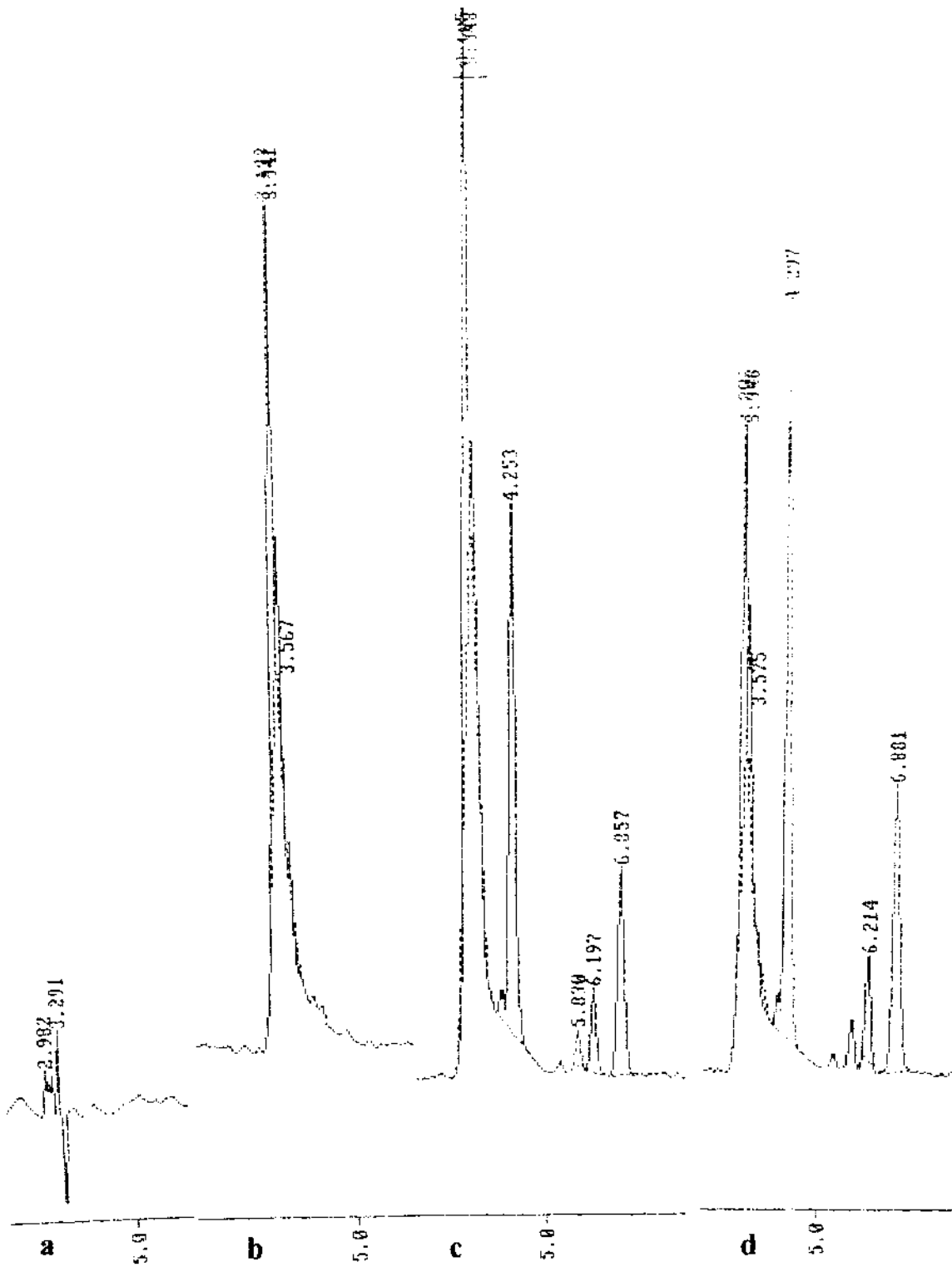
Pada gambar 6 = kromatogram adisi larutan EPMS (RT 6.15) dan APMS (RT 4.365) pada MeOH pro HPLC (RT \pm 3.2) terhadap campuran sampel plasma (RT \pm 3.5) sesudah perlakuan t \geq 15 menit (1 puncak APMS pada RT 4.352). Hasil akhir menunjukkan puncak metanol, puncak plasma, 1 puncak APMS pada RT 4.332 dan 1 puncak EPMS pada RT 6.349. Perubahan area APMS signifikan.

Pada gambar 7 s/d 12 = cuplikan kromatogram sampel plasma darah kelinci I s/d V.

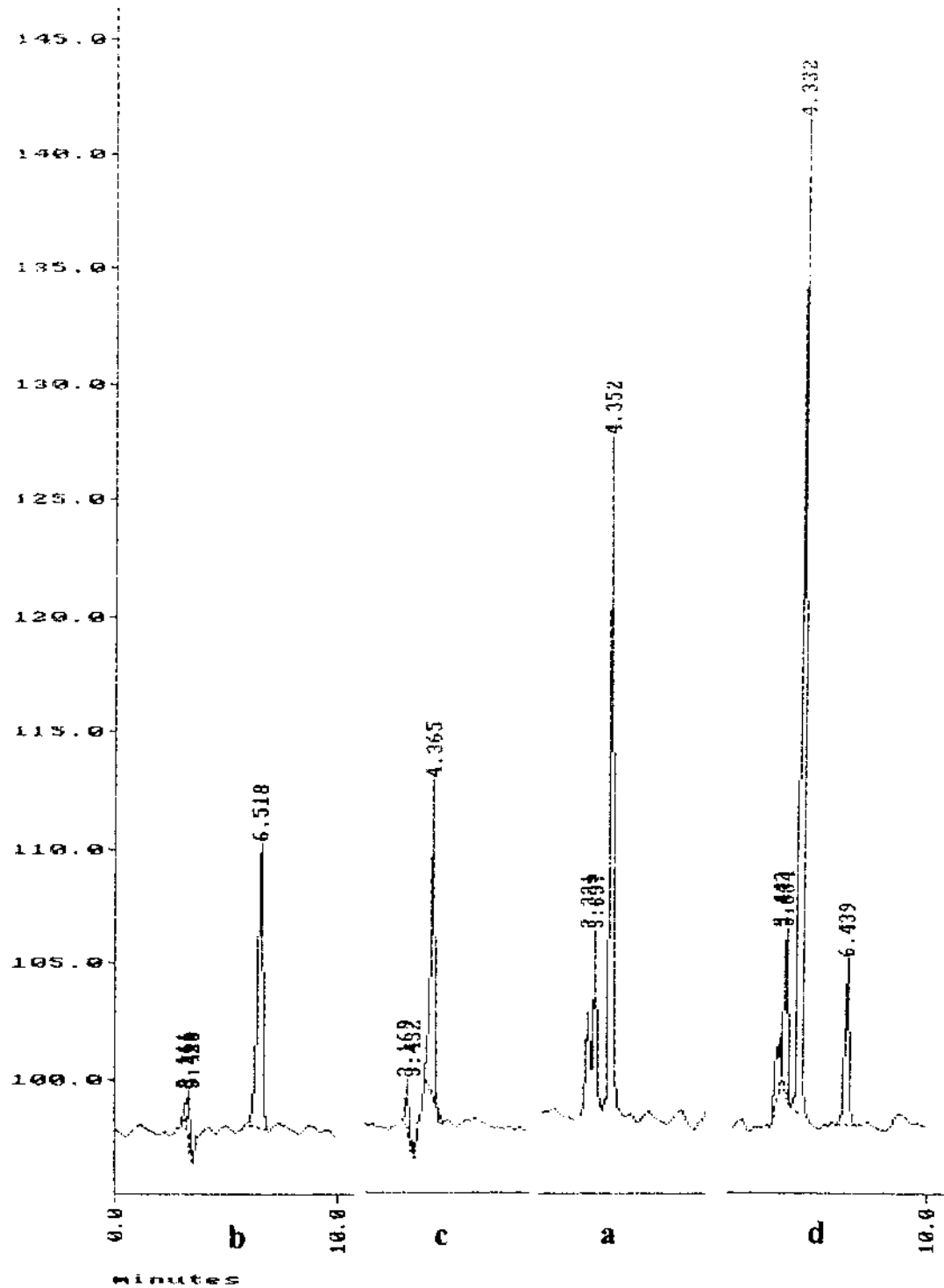
Pada tabel 2 s/d 6 = menunjukkan puncak (nilai RT) dan area bawah kurva APMS. Untuk kelinci I koefisien variasi nilai RT (% SD) = 0.90 %. Untuk kelinci II koefisien variasi nilai RT (% SD) = 0.43 %. Untuk kelinci III koefisien variasi nilai RT (% SD) = 0.87 %. Untuk kelinci IV koefisien variasi nilai RT (% SD) = 0.85 %. Untuk kelinci V koefisien variasi nilai RT (% SD) = 1.02 %. Untuk kelinci I s/d V koefisien variasi nilai RT (% SD) < 2 %, berarti memenuhi persyaratan yang berlaku.



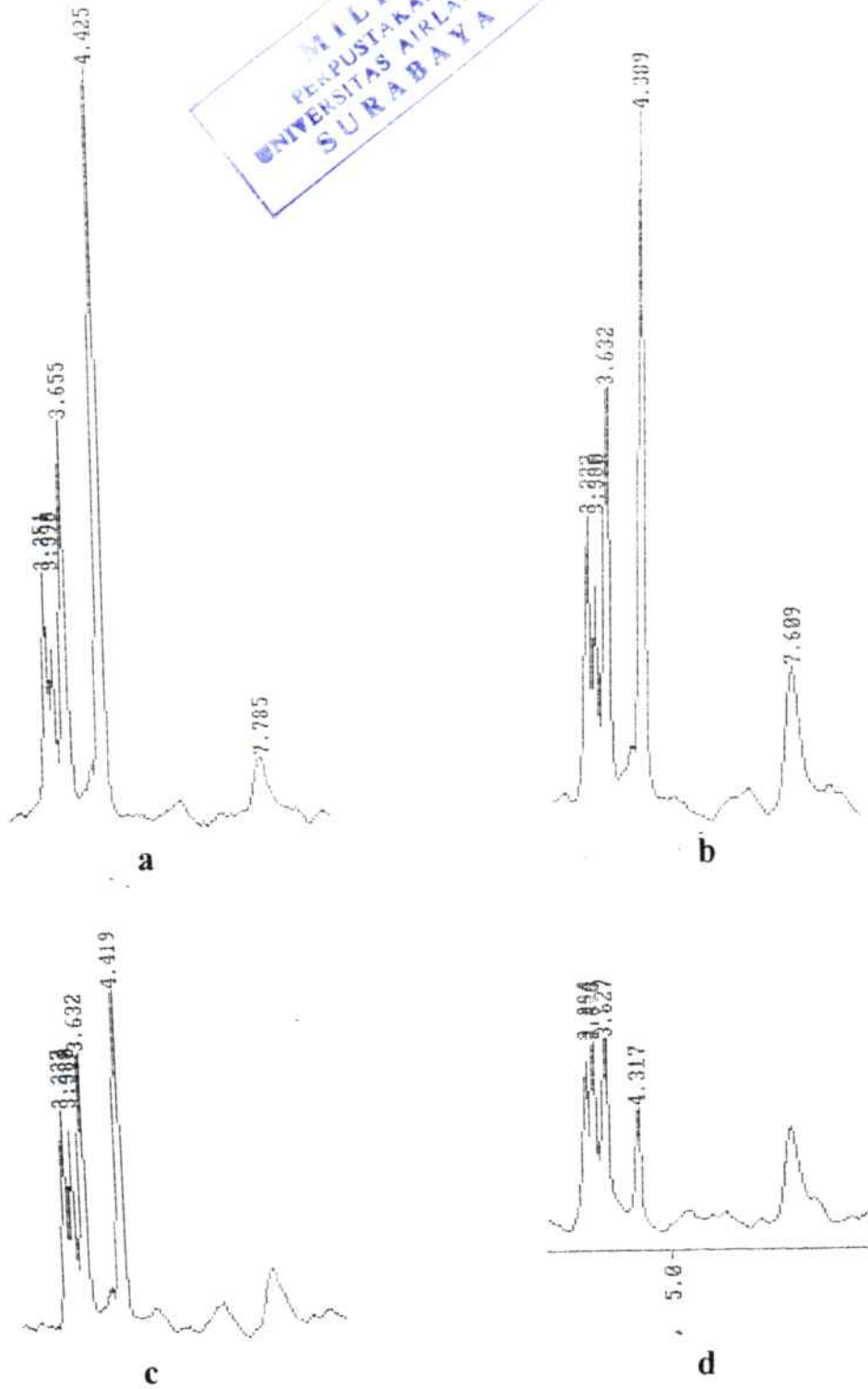
Gambar 5 : Kromatogram larutan EPMS dan larutan APMS; a. 0.5 ppm EPMS (RT=6.321) + 0.5 ppm APMS (RT=4.211); b. 0.8 ppm EPMS (RT=6.350) + 0.8 ppm APMS (RT=4.231); c. 1.0 ppm EPMS (RT=6.325) + 1.0 ppm APMS (RT=4.175).



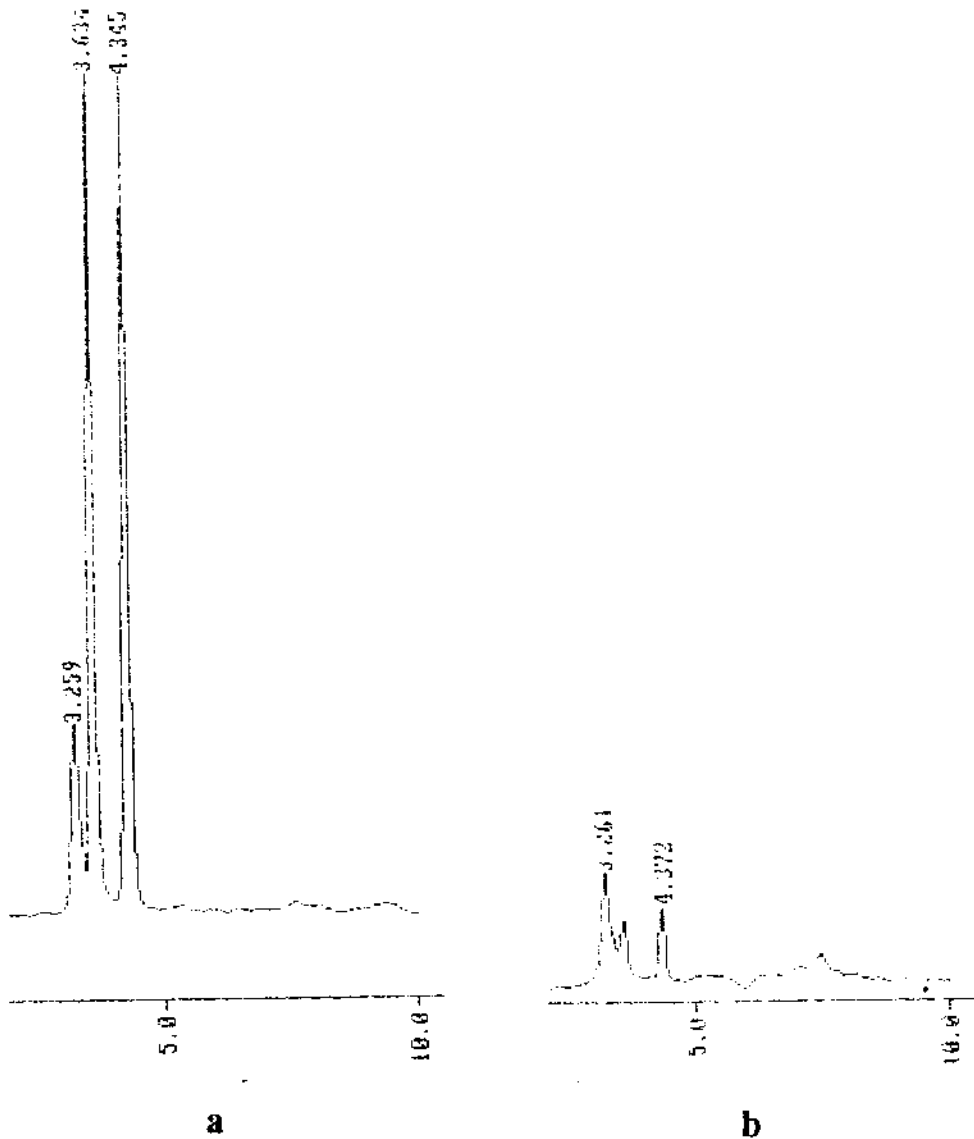
Gambar 6 : Kromatogram : a. MeOH pro HPLC; b. plasma + MeOH pro HPLC;
 c. rekaveri 0.25 ppm EPMS (RT 6.857) - 0.25 ppm APMS (RT 4.253)
 d. rekaveri 0.5 ppm EPMS (RT 6.881) - 0.5 ppm APMS (RT 4.297)



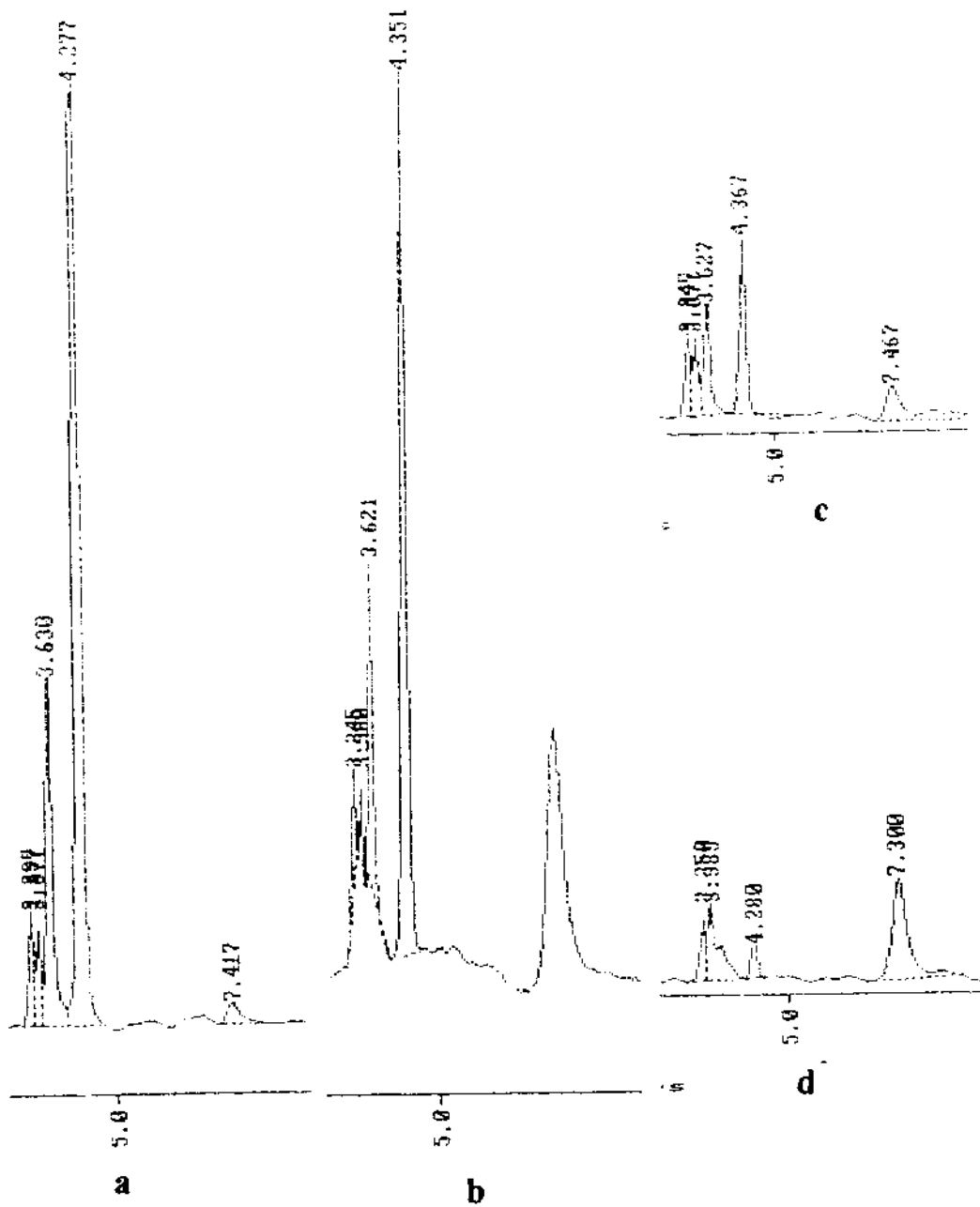
Gambar 7: Kromatogram adisi a. sampel plasma (RT \pm 3.2) yang mengandung APMS (RT 4.352) + b. larutan EPMS (RT 6.158) + c. larutan APMS (RT 4.365). Hasil akhir menunjukkan d. 1 puncak APMS dengan penambahan area yang signifikan (RT 4.332) dan 1 puncak EPMS (RT 6.439)



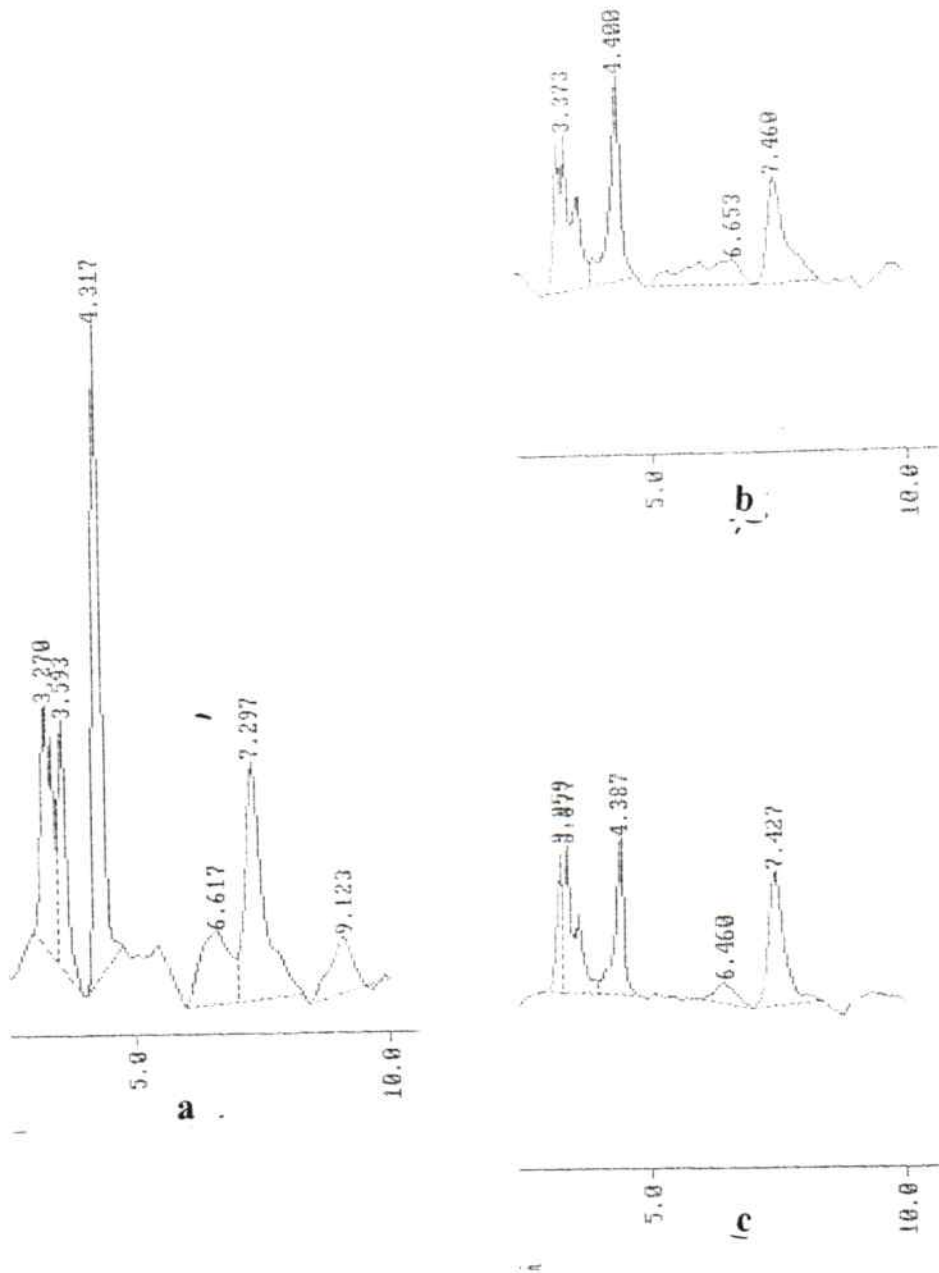
Gambar 8 : Kromatogram sampel plasma kelinci I; tidak terdeteksi adanya EPMS ($RT \pm 6.8$); terdeteksi APMS : a. setelah perlakuan 15 menit (RT 4.425); b. setelah perlakuan 30 menit (RT 4.389) ; c. setelah perlakuan 60 menit (RT 4.419) dan d. setelah perlakuan 180 menit (RT 4.317). Pada perlakuan menit ke 15 dan 30 terdeteksi ada zat baru ($RT= 7.785$) dan menghilang setelah perlakuan lebih dari 60 menit



Gambar 9 : Kromatogram sampel plasma kelinci II; tidak terdeteksi adanya EPMS ($RT \pm 6.8$), terdeteksi APMS : a. setelah perlakuan 15 menit ($RT 4.435$); b. setelah perlakuan 180 menit ($RT 4.372$). Pada perlakuan menit ke 15 tidak ada zara baru ($RT \pm > 7$)

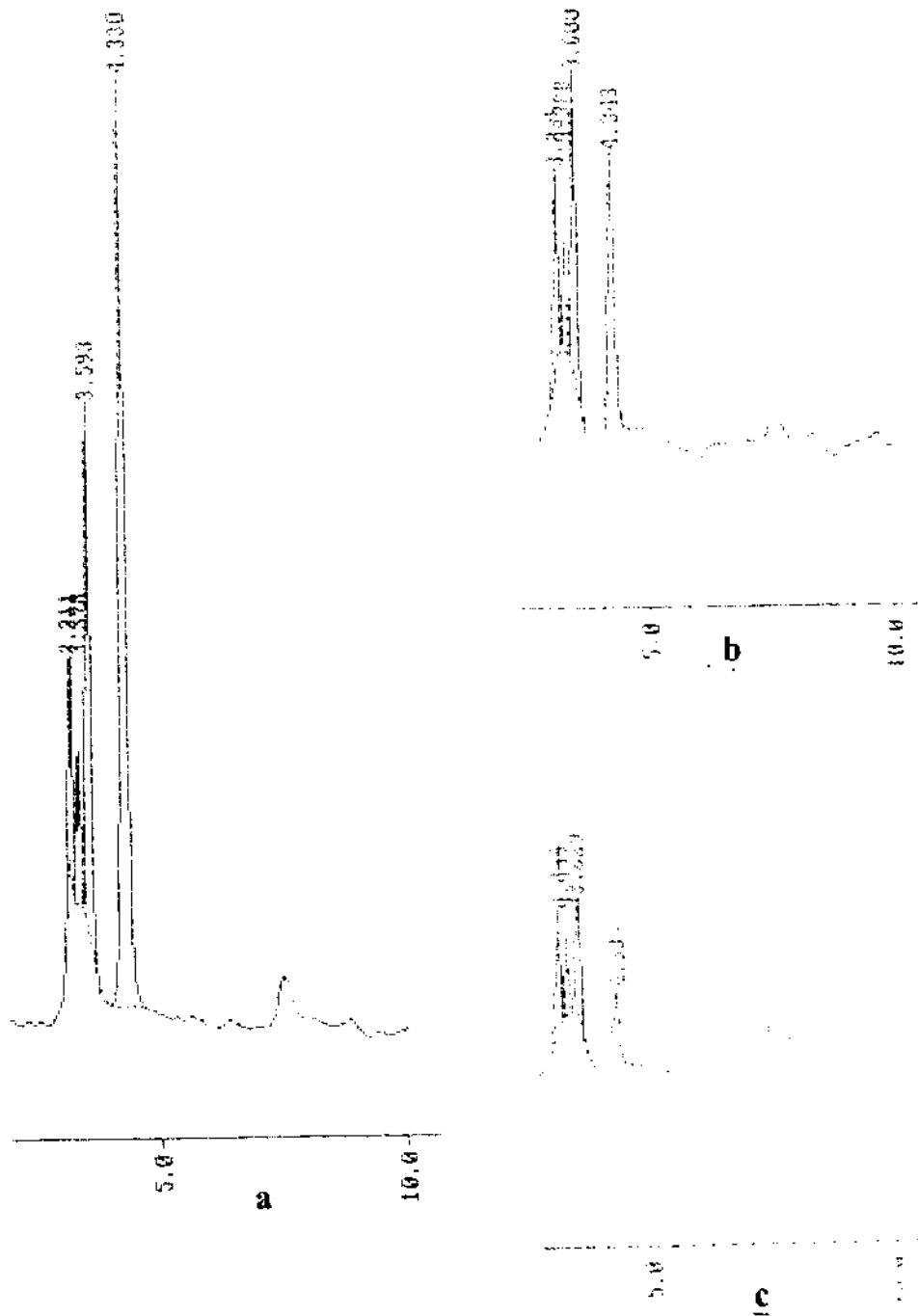


Gambar 10 : Kromatogram sampel plasma kelinci III; tidak terdeteksi adanya EPMS ($RT \pm 6.8$); terdeteksi APMS : a. setelah perlakuan 15 menit; (RT 4.277); b. setelah perlakuan 30 menit (RT 4.351); c. setelah perlakuan 60 menit (RT 4.367); d. setelah perlakuan 180 menit (RT 4.280). Pada perlakuan menit ke 15 ada zat baru (RT 7.417) dan membesar s/d perlakuan 180 menit

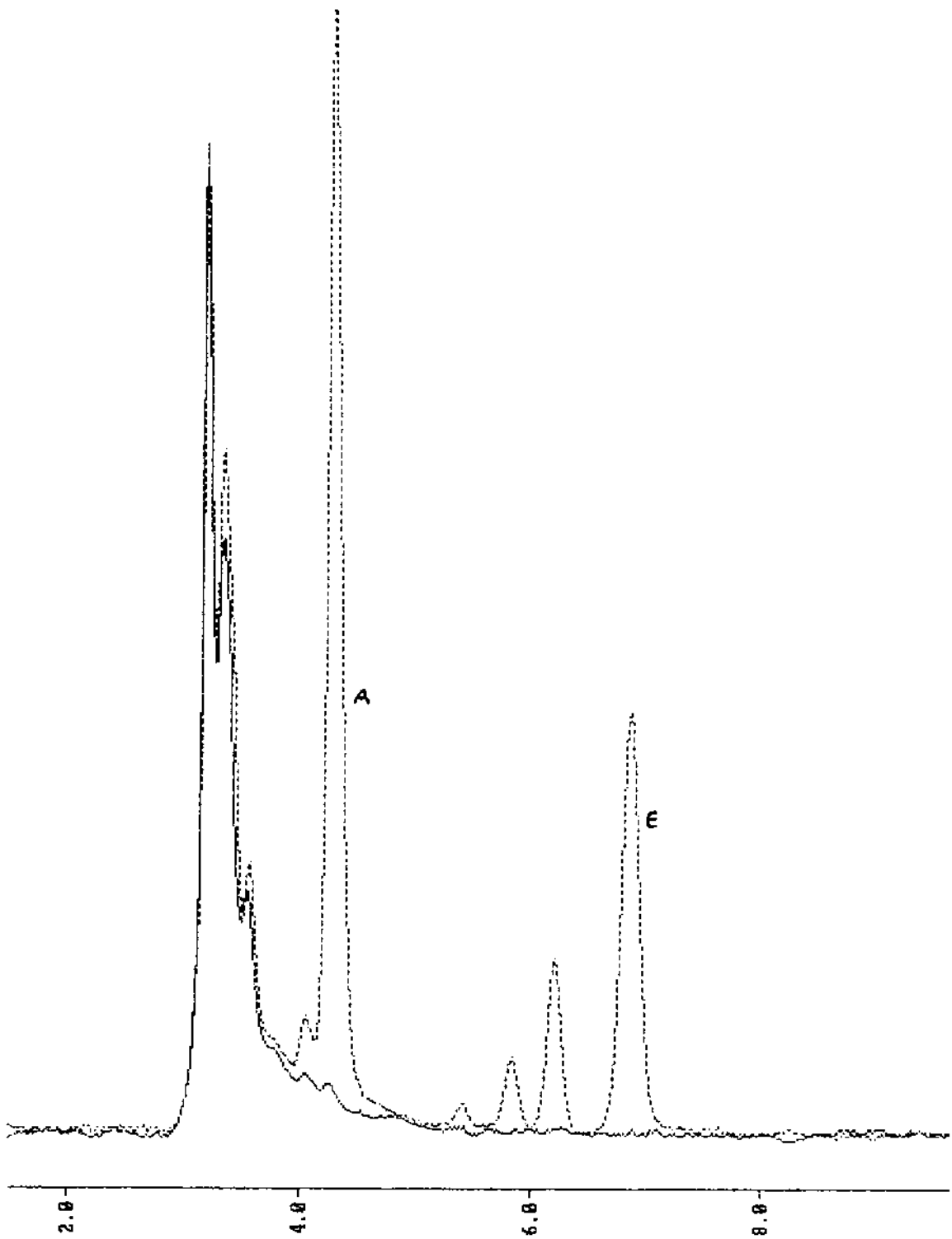


Gambar 11 : Kromatogram sampel plasma kelinci IV; tidak terdeteksi adanya EPMS ($RT \pm 6.8$); terdeteksi APMS : a. setelah perlakuan 15 menit ($RT 4.317$); b. setelah 60 menit ($RT 4.400$); c. setelah perlakuan 180 menit ($RT 4.387$). Pada perlakuan menit ke 15 s/d 180 menit ada zat baru

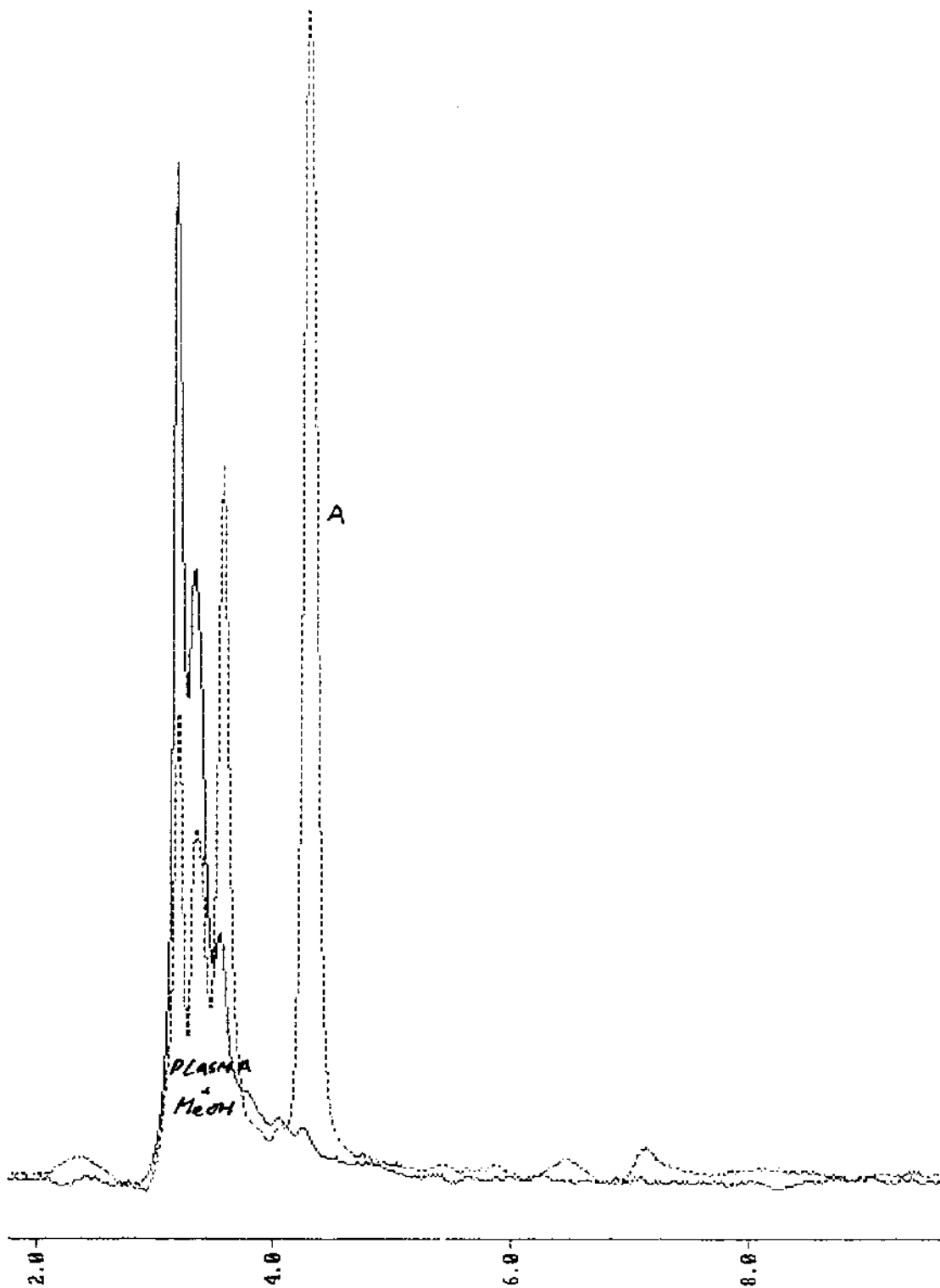




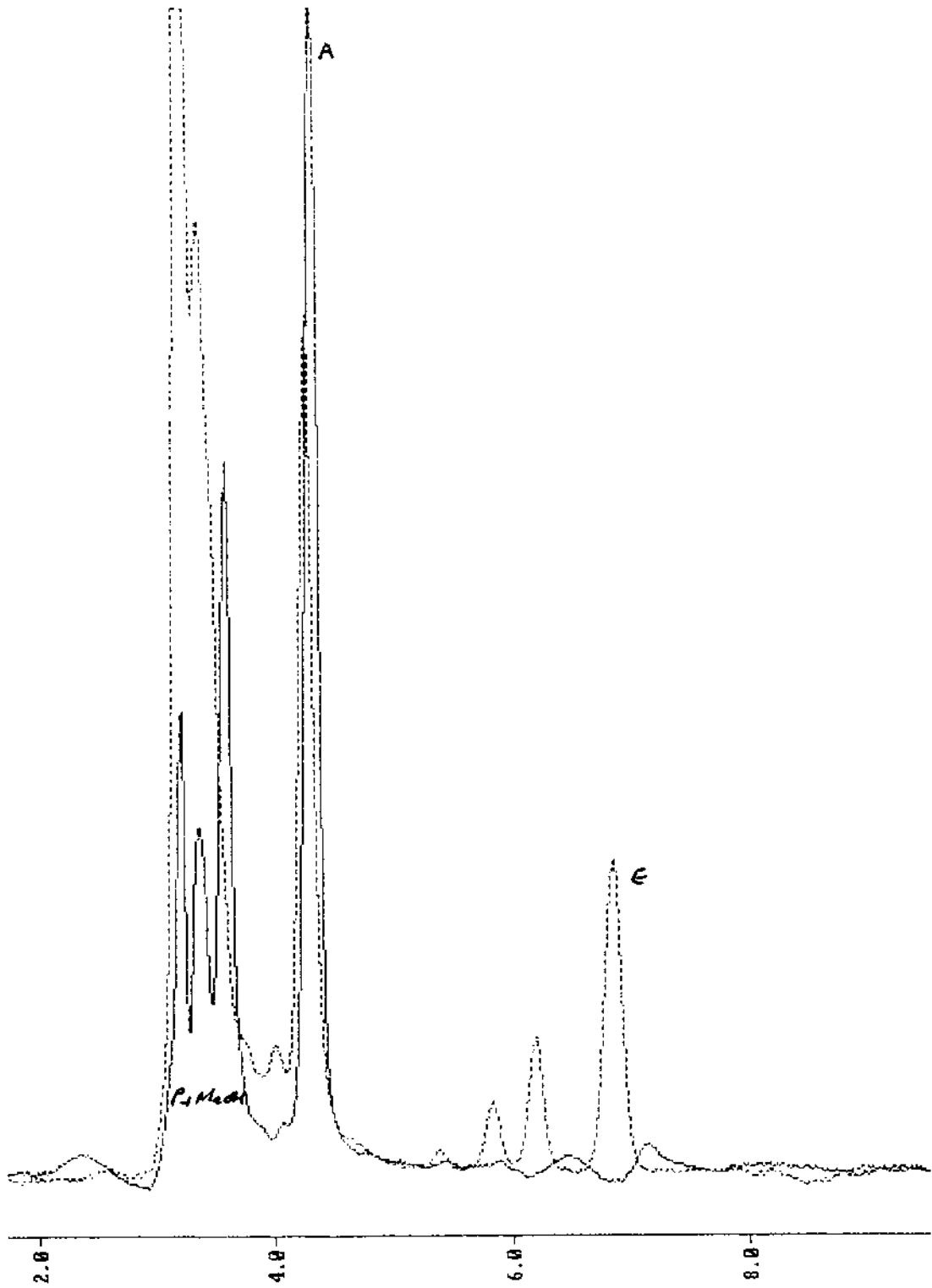
Gambar 12 : Kromatogram sampel plasma kelinci V; tidak terdeteksi adanya EPMS ($RT \pm 6.8$); terdeteksi APMS : a. setelah perlakuan 15 menit ($RT 4.330$); b. setelah perlakuan 60 menit ($RT 4.343$); c. setelah perlakuan 180 menit (4.389). Pada perlakuan menit ke 15 s/d 180 menit tidak ada zat baru.



Gambar 13 : Kromatogram *overlay* plasma + MeOH dan rekaveri APMS 0.25 ppm (lebih polar) dan EPMS 0. 25 ppm



Gambar 14 : Kromatogram *overlay* dari plasma + MeOH (—) dan plasma kelinci V setelah perlakuan 15 menit (----- → ada APMS)



Gambar 15 : Kromatogram *overlay* dari rekaveri EPMS + APMS (----) dan plasma kelinci V setelah perlakuan 15 menit (—)

1.3. Pengamatan plasma darah kelinci I s/d V, setelah perlakuan

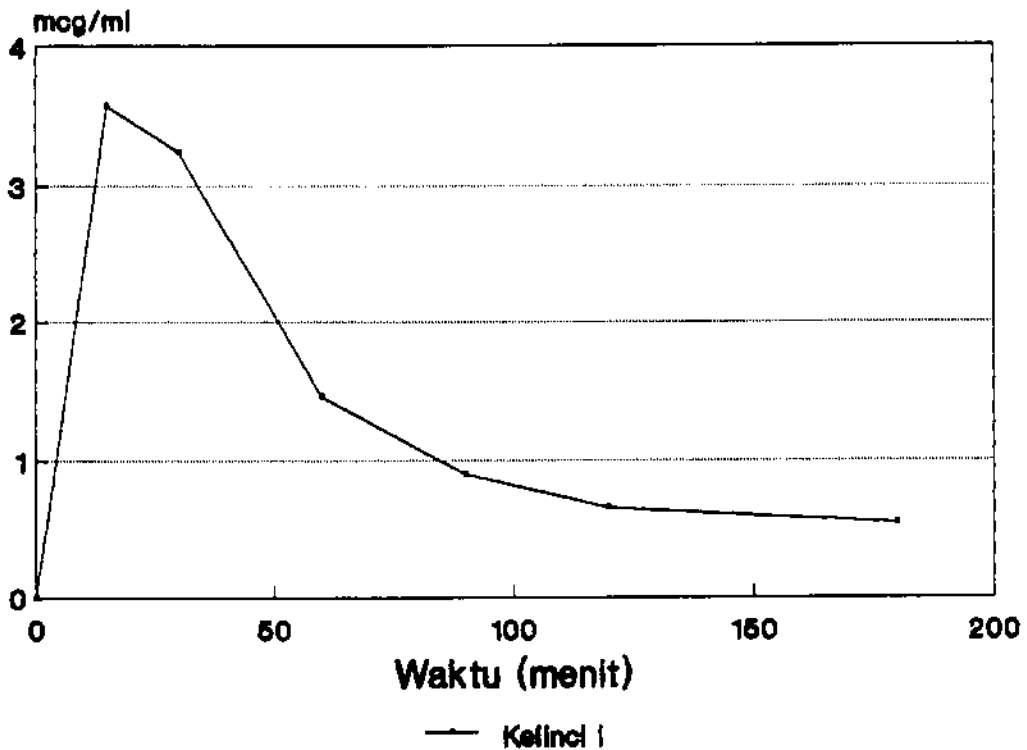
Tabel 2 s/d 8 menunjukkan data pengamatan larutan EPMS dalam plasma darah kelinci pada interval waktu tertentu, setelah pemberian per oral suspensi EPMS dalam EtOH 20 % : 1 ml/ kg BB setara dengan 10 mg/ Kg BB.

Tabel : 2

Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah Kelinci I

No	Waktu (menit)	EPMS		APMS		Kadar APMS Terhitung	
		RT	Area	RT	Area	Sampel : Me (1=3) (ppm)	Per ml plasma (ppm)
1	0	-	-	-	-	0.00	0.00
2	15	-	-	4.425	101357	1.1888	3.57
3	30	-	-	4.389	91480	1.0773	3.24
4	60	-	-	4.419	38657	0.4820	1.45
5	90	-	-	4.389	22606	0.3012	0.90
6	120	-	-	4.441	15312	0.2190	0.66
7	180	-	-	4.317	12030	0.1820	0.55

	t_{maks} (menit)	C_{maks} (menit)	AUC_{0-180} (mcg-menit/ ml)	$t_{1/2}$ (jam ⁻¹)	k_{el} (jam ⁻¹)
I	15	3.57	243.150	0.94	1.23×10^{-2}



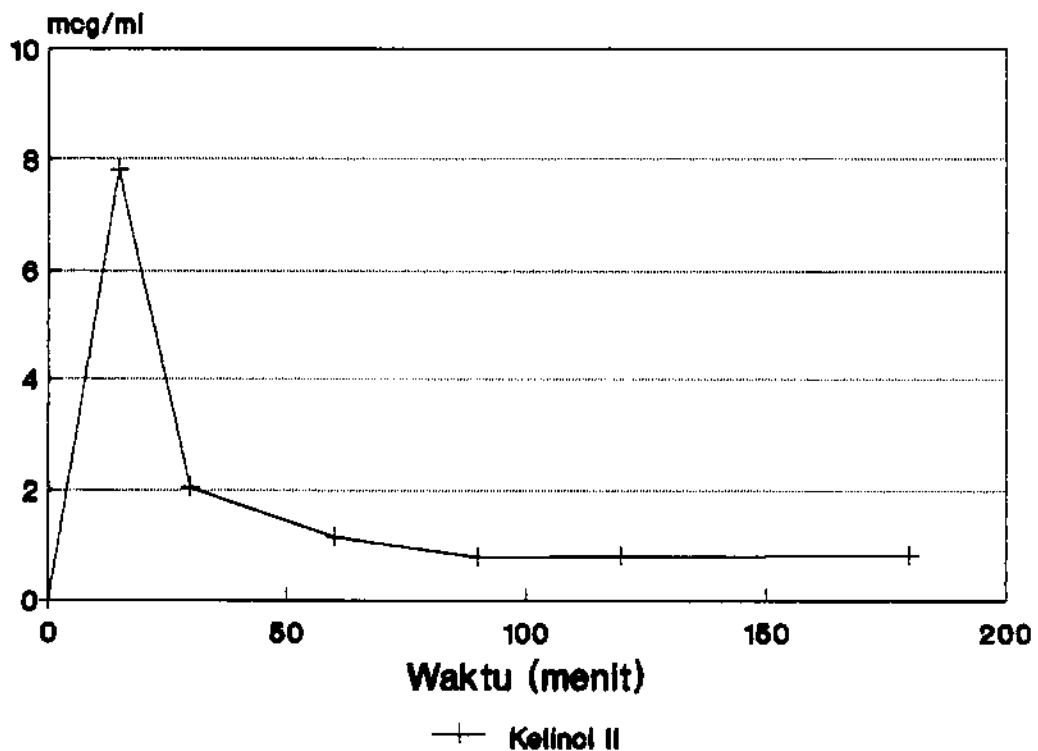
Gambar 16 : Profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci I

Tabel : 3

Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah Kelinci II

No	Waktu (menit)	EPMS		APMS		Kadar APMS Terhitung	
		RT	Area	RT	Area	Sampel : Me (l=3) (ppm)	Per ml plasma (ppm)
1	0	-	-	-	-	0.00	0.00
2	15	-	-	4.345	226925	2.6028	7.81
3	30	-	-	4.357	56099	0.6786	2.04
4	60	-	-	4.367	30164	0.3863	1.16
5	90	-	-	4.348	19532	0.2665	0.80
6	120	-	-	4.320	19712	0.2686	0.81
7	180	-	-	4.372	20346	0.2777	0.83

	t_{maks} (menit)	C_{maks} (menit)	AUC_{0-180} (mcg-menit/ml)	$t_{1/2}$ (jam ⁻¹)	K_{el} (jam ⁻¹)
II	15	7.81	283.200	0.94	1.71×10^{-2}



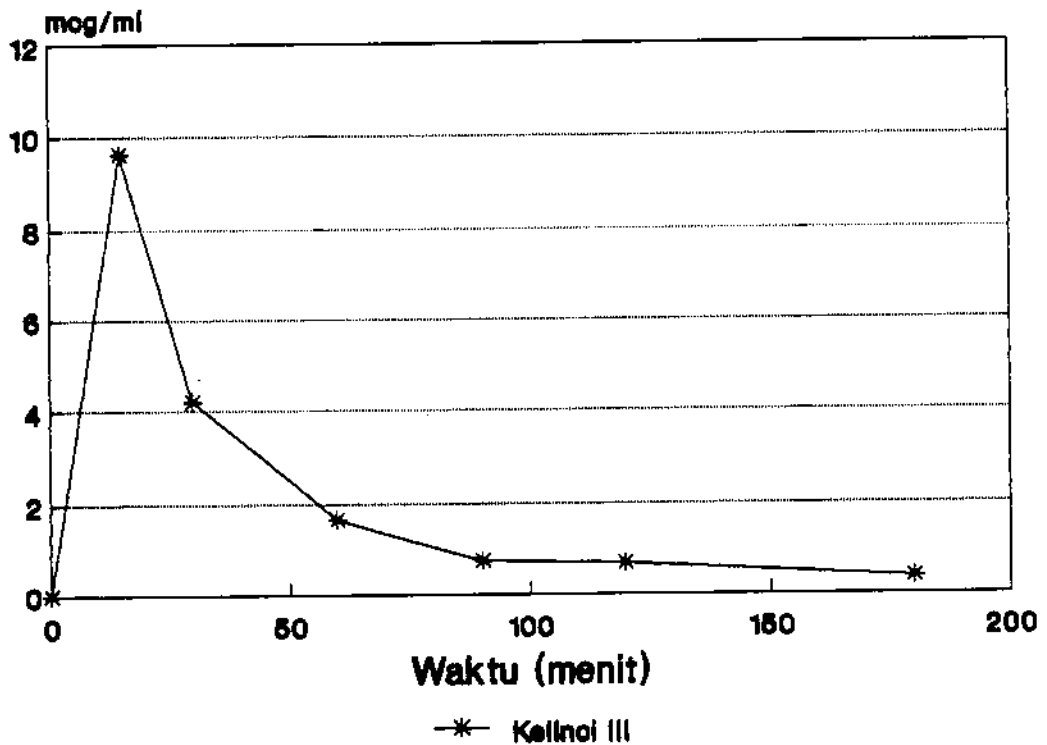
Gambar 17 : Profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci II

Tabel : 4

Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah Kelinci III

No	Waktu (menit)	EPMS		APMS		Kadar APMS Terhitung	
		RT	Area	RT	Area	Sampel : Me (1=3) (ppm)	Per ml plasma (ppm)
1	0	-	-	-	-	0.00	0.00
2	15	-	-	4.277	280814	3.2105	9.63
3	30	-	-	4.351	120352	1.4025	4.21
4	60	-	-	4.367	44943	0.5529	1.66
5	90	-	-	4.310	17740	0.2464	0.74
6	120	-	-	4.337	16328	0.2305	0.69
7	180	-	-	4.280	6845	0.1236	0.37

	$t_{maks.}$ (menit)	$C_{maks.}$ (menit)	AUC_{0-180} (mcg-menit/ ml)	$t_{1/2}$ (jam ⁻¹)	K_{el} (jam ⁻¹)
III	15	9.63	353.325	0.63	1.85×10^{-2}



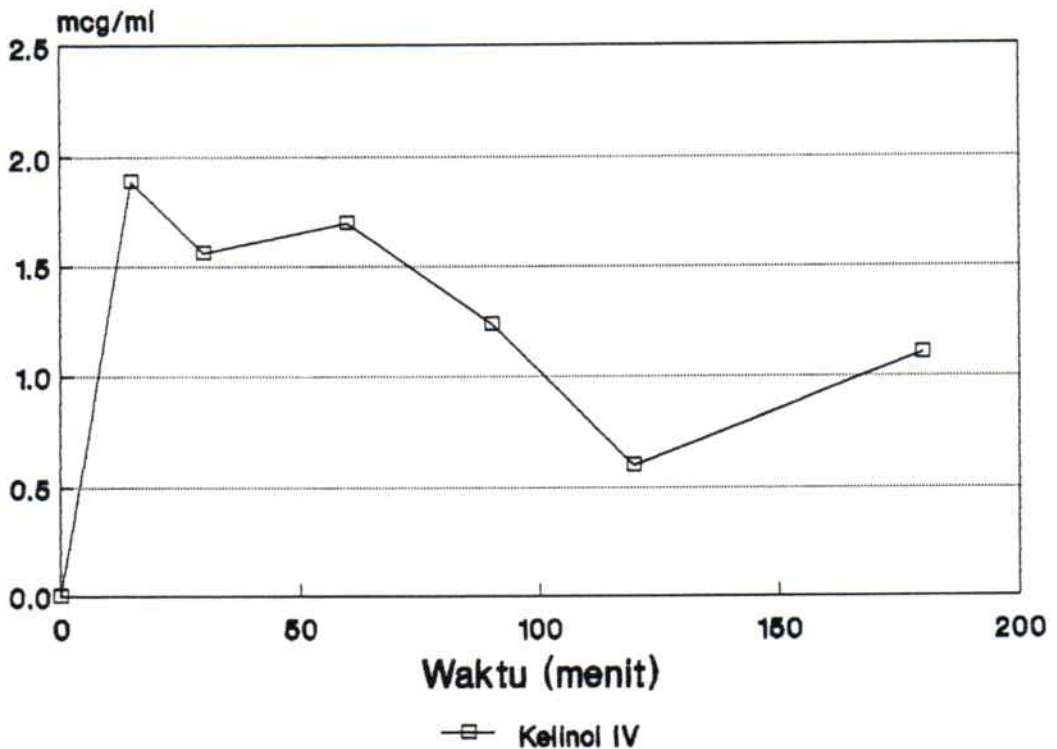
Gambar 18 : Profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci III

Tabel : 5

Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) plasma darah Kelinci IV

No	Waktu (menit)	EPMS		APMS		Kadar APMS Terhitung	
		RT	Area	RT	Area	Sampel : Me (1=3) (ppm)	Per ml plasma (ppm)
1	0	-	-	-	-	0.00	0.00
2	15	-	-	4.317	51908	0.6314	1.89
3	30	-	-	4.330	41915	0.5188	1.56
4	60	-	-	4.400	46135	0.5663	1.70
5	90	-	-	4.403	32370	0.4112	1.23
6	120	-	-	4.383	13639	0.2001	0.60
7	180	-	-	4.387	28337	0.3658	1.10

	$t_{maks.}$ (menit)	$C_{maks.}$ (menit)	AUC_{0-180} (mcg-menit/ ml)	$t_{1/2}$ (jam ⁻¹)	K_{el} (jam ⁻¹)
IV	15	1.89	237.225	0.68	1.71×10^{-2}



Gambar 19 : Profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci IV

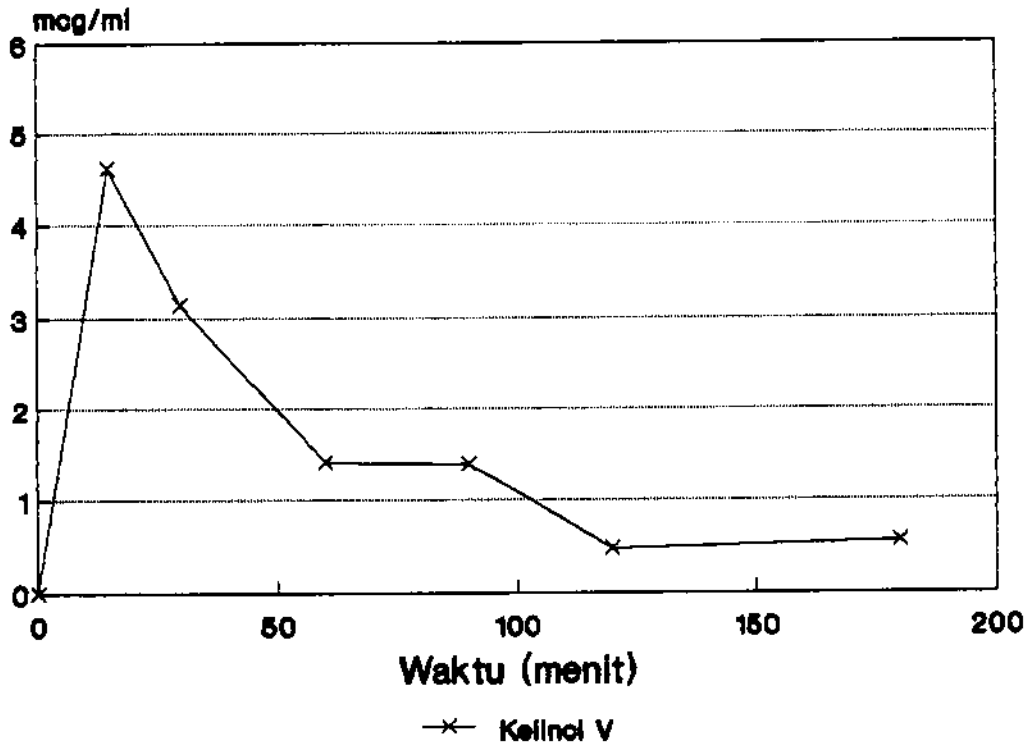


Tabel : 6

Hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (= APMS) plasma darah Kelinci V

No	Waktu (menit)	EPMS		APMS		Kadar APMS Terhitung	
		RT	Area	RT	Area	Sampel : Me (1=3) (ppm)	Per ml plasma (ppm)
1	0	-	-	-	-	0.00	0.00
2	15	-	-	4.330	132640	1.5410	4.62
3	30	-	-	4.410	88571	1.0414	3.13
4	60	-	-	4.343	37611	0.4702	1.41
5	90	-	-	4.423	34118	0.4309	1.29
6	120	-	-	4.405	9903	0.1581	0.47
7	180	-	-	4.439	12153	0.1834	0.55

	t_{maks} (menit)	C_{maks} (menit)	AUC ₀₋₁₈₀ (mcg-menit/ml)	$t_{1/2}$ (jam ⁻¹)	k_{el} (jam ⁻¹)
V	15	4.62	258.375	0.17	2.00×10^{-2}



Gambar 20 : Profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci V

Tabel : 7

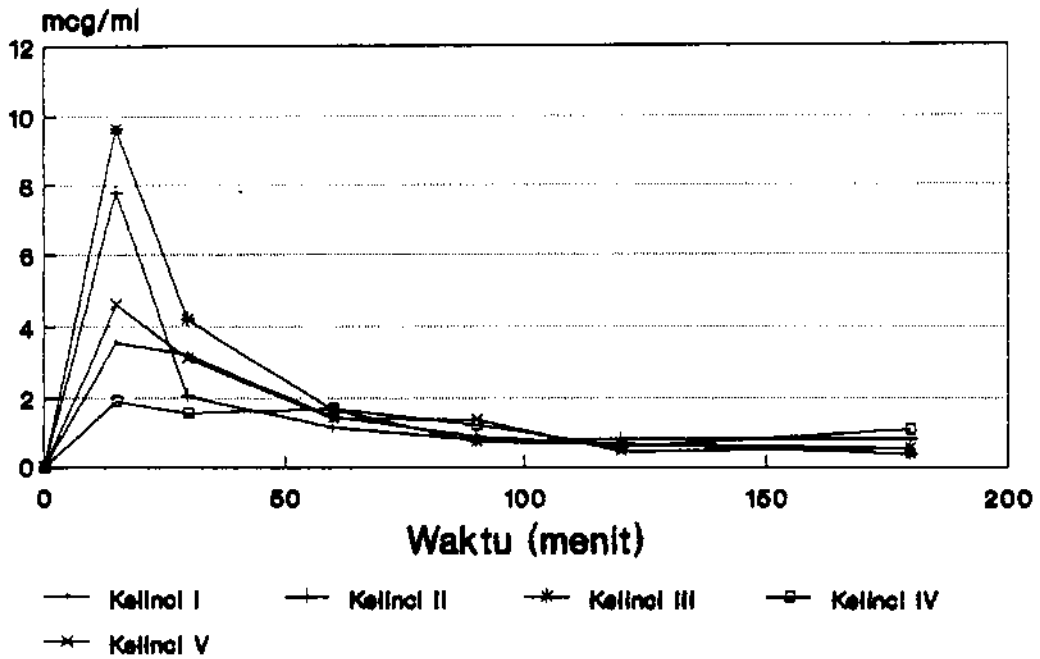
Rekapitulasi dan rerata hasil pengamatan kadar biotransformat EPMS (=APMS) pada plasma darah Kelinci I s/d V ($\mu\text{g ml}$)

KELINCI KE	Kadar APMS dalam plasma ($\mu\text{g/ml}$), pada menit ke						
	0	15	30	60	90	120	180
I	0.00	3.57	3.24	1.45	0.90	0.66	0.55
II	0.00	7.81	2.04	1.16	0.80	0.81	0.83
III	0.00	9.63	4.21	1.66	0.74	0.69	0.37
IV	0.00	1.89	1.56	1.70	1.23	0.60	1.10
V	0.00	4.62	3.13	1.41	1.29	0.47	0.55
→ Rerata	0.00	5.51	2.84	1.48	0.99	0.65	0.68
→ SD %		3.16 (57%)	1.05 (37%)	0.22 (15%)	0.25 (25%)	0.13 (20%)	0.29 (43%)

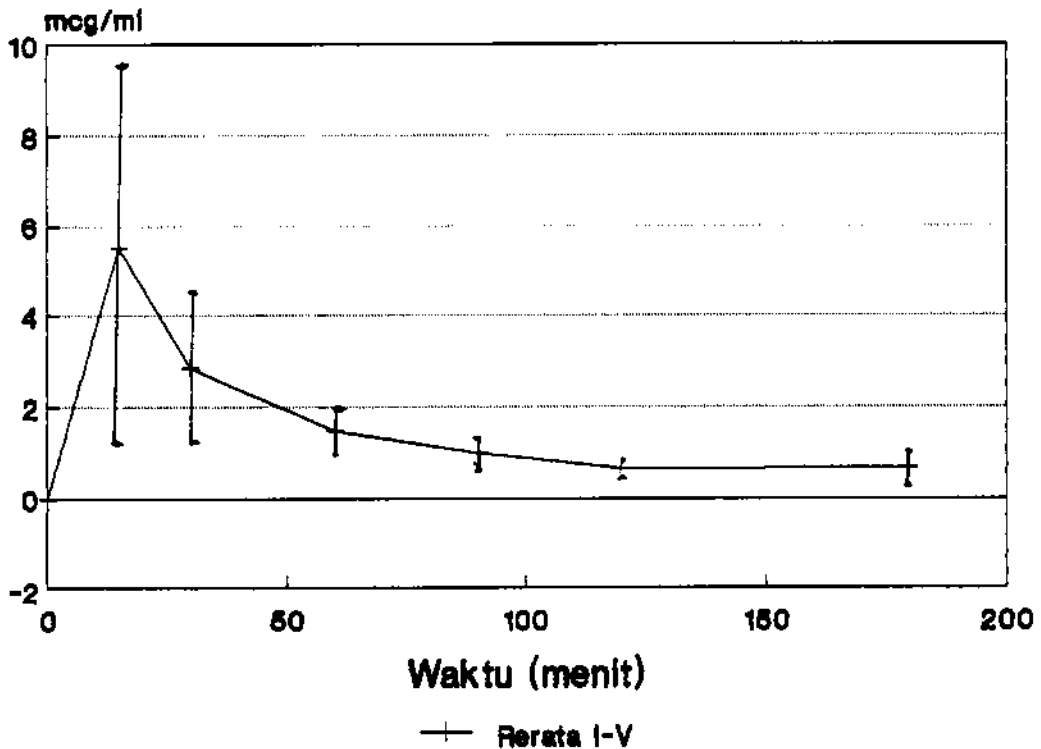
Tabel : 8

Rekapitulasi dan rerata harga parameter farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) pada plasma darah Kelinci I s/d V

Kelinci ke	$t_{\text{maks.}}$ (menit)	$C_{\text{maks.}}$ (mcg/ml)	AUC_{0-180} (mcg-menit/ ml)	$t_{1/2}$ (jam ⁻¹)	k_{el} (jam ⁻¹)
I	15	3.57	243.150	0.94	1.23×10^{-2}
II	15	7.81	283.200	0.94	1.71×10^{-2}
III	15	9.63	353.325	0.63	1.85×10^{-2}
IV	15	1.89	237.225	0.68	1.71×10^{-2}
V	15	4.62	258.375	0.17	2.00×10^{-2}
Rerata =	15	5.5124	275.055	0.672	1.71×10^{-2}
SD =	0 (0%)	3.1564 (57.26%)	47.222 (17.17%)	0.315 (46.86%)	0.29×10^{-2} (16.96%)



Gambar 21 : Rekap profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci I - V



Gambar 22 : Rerata profil farmakokinetik kadar biotransformat EPMS (=APMS)/ Grafik kadar obat rerata dalam darah (mcg/ml) vs waktu (menit) pada Kelinci I - V

2. Pembahasan

Penelitian biofarmasi/ metabolisme bahan alam merupakan komponen penting pada tahapan preklinik ataupun klinik [Mulja HS,1997] dan 41 % kegagalan pengembangan bahan alam menjadi obat modern karena terlalu rendahnya ketersediaan hayati (*bioavailability*) [Lipper,1999]. Publikasi bioavailabilitas pada binatang coba dari ekstrak Ginkgo biloba yang telah beredar lama di Eropa dan Asia, baru dikerjakan tahun 1997 pada tikus dengan metoda radioanalisis [Li CL; Wong WW) dan tahun 1999 pada kelinci dengan metoda analisis GC/ MS (Biber A dan Koh F). Maka penelitian bioavailabilitas tanaman/ sekret atau bagian tanaman obat di Indonesia perlu mulai diperhatikan dan tidak terlambat.

Teknis ekstraksi EPMS atau metabolit EPMS dalam plasma dengan MeOH pro HPLC : Aquabidest (75 :25) dalam penelitian ini menunjukkan nilai recovery lebih tinggi dibandingkan dengan cara ekstraksi menggunakan Dietil eter p.a. atau dengan alat SPE (*Solid Phase Extraction*) RP18-ODS. Penambahan Asam fosfat pada aquabidest untuk mencegah terjadinya ionisasi metabolit selama proses KCKT. Pemilihan perbandingan MeOH pro HPLC : Aquabidest + asam fosfat (75 : 25) setelah dilakukan analisis secara gradien. Pada larutannya sendiri dalam MeOH pro analisis, dalam plasma darah waktu rekaveri dan sampel darah setelah perlakuan, EPMS dan APMS terukur pada waktu retensi yang cukup terpisah dan kadarnya (luas area pengukuran) dapat terbedakan secara signifikan oleh detektor (gambar 4 s/d 13)

Hasil penelitian dengan binatang coba kelinci ini menunjukkan bahwa larutan kristal EPMS yang dimasukkan langsung kedalam lambung kelinci per oral, mengalami biotransformasi menjadi APMS (tabel 2 s/d 8 dan gambar 14 s/d 18). Tidak terdeteksi berapa prosen EPMS yang terabsorpsi dan yang berubah menjadi APMS karena tidak teramati terjadinya efek lintas pertama oleh asam lambung atau enzim-enzim lain yang berada dalam saluran cerna, darah atau hepar. Khusus untuk kelinci I (gambar 6), kelinci III (gambar 8) dan kelinci IV (gambar 9) pada menit ke 7 dan 9 timbul zat lain yang lebih non polar dibandingkan EPMS. Kadar zat tersebut terbentuk dan hilang pada menit tertentu (gambar 6) atau semakin besar (gambar 8 dan 9).

Pada kelima hewan coba kelinci tersebut dapat disimpulkan bahwa pola proses biotransformasi sama. EPMS yang dimasukkan langsung kedalam lambung per oral, terdeteksi dalam keadaan terubah menjadi APMS pada plasma darah mulai dari 15 menit sesudah waktu perlakuan. Fakta terjadinya variasi harga parameter farmakokinetik C_{maks} , AUC, k_{el} , dan $t_{1/2}$, (tabel 7 dan tabel 8) lebih banyak disebabkan kelinci lokal yang digunakan tidak teridentifikasi mempunyai galur yang sama, karena jenis makanan dan kondisi pemeliharaan selama penelitian telah dibuat sama. Hal ini juga terlihat adanya perbedaan susunan plasma pada kelinci 1, 3 dan 4 yang berbeda dengan kelinci 2 dan 5 (gambar 6 s/d 10). Meskipun demikian harga rerata AUC_{0-180} dan k_{el} dengan derajat deviasi $< 20\%$, menunjukkan adanya kesetaraan yang umum terjadi pada percobaan *invivo*. Khusus parameter t_{maks} perlu diragukan karena interval waktu pengambilan pertama sampel darah adalah 15 menit sesudah $t=0$.

Penelitian Mulja HS (1996) memakai sel hepatosit tikus yang menunjukkan bahwa EPMS termetabolisasi/ mengalami biotransformasi menjadi APMS serupa dengan hasil penelitian ini, yang tidak menemukan EPMS dalam plasma darah. Diasumsikan senada dengan perubahan ester asetosal menjadi asam salisilat jika asetosal dipakai per oral dalam dosis pakai. Dalam lambung asetosal diserap dalam bentuk aslinya dan sebagian dalam bentuk salisilat sebagai akibat terjadinya hidrolisa oleh asam lambung. Bentuk ester yang terabsorpsi akan dihidrolisa cepat pada plasma, hepar dan eritrosit dan lebih lambat pada cairan sinovial. Dalam plasma asetosal dapat dideteksi dalam waktu pendek; 30 menit setelah pemberian dosis 0.65 g, kadar dalam plasma 27 % dari jumlah kadar salisilat. Cepatnya hidrolisa menyebabkan kadar asetosal dalam plasma rendah. Pada dosis terapi: 50-80 % terikat protein plasma antara lain albumin. Metabolisme asetosal terjadi di jaringan dan terutama di sistim mikrosomal hepar. Tiga metabolit utama ialah asam salisilat (konjugasi glisin), eter atau fenolik glukuronida dan ester atau asil glukuronida. Sebagian kecil dioksidasi menjadi asam gentisat, asam dihidroksi benzoat dan asam trihidroksi benzoat [Goodman LS, Gilman A, 1970].

Mungkin perubahan EPMS menjadi APMS pada penelitian ini disebabkan oleh hal yang sama.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN :

1. Suspensi kristal Etil Para Metoksi Sinamat (EPMS) yang dimasukkan langsung kedalam lambung tidak terdeteksi dalam 35 sampel plasma darah (5 kelinci @ 7 kali pengambilan). Ketersediaan hayati/ Parameter farmakokinetik terukur dalam bentuk Asam Para Metoksi Sinamat (APMS) suatu hasil dari proses biotransformasi EPMS.
2. Profil farmakokinetik/ harga parameter farmakokinetik biotransformat EPMS (=APMS) pada kelima kelinci sebagai berikut :

$$t_{maks} = 15 \text{ menit}$$

$$t_{maks} \text{ rerata} = 15 \pm 0 \text{ menit}$$

$$C_{maks} = 1.89 - 9.63 \mu\text{g} / \text{ml}$$

$$C_{maks} \text{ rerata} = 5.5124 \pm 3.1564 \mu\text{g} / \text{ml}$$

$$t_{1/2} \text{ biol} = 0.17 - 0.94 \text{ jam}^{-1}$$

$$t_{1/2} \text{ biol} \text{ rerata} = 0.672 \pm 0.315 \text{ jam}^{-1}$$

$$k_{el} = (1.23 - 2.0) \times 10^{-2} \text{ jam}^{-1}$$

$$k_{el} \text{ rerata} = (1.71 \pm 0.29) \times 10^{-2} \text{ jam}^{-1}$$

$$AUC_{0-180} = 237.225 - 353.325 \mu\text{g} \cdot \text{menit} / \text{ml}$$

$$AUC_{0-180} \text{ rerata} = 275.055 \pm 47.222 \mu\text{g} \cdot \text{menit} / \text{ml}$$

SARAN :

1. Penelitian ketersediaan hayati serupa, perlu dilakukan untuk bahan-bahan obat yang mengandung EPMS. Pembuktian profil farmakokinetik bahan obat tradisional yang lain perlu dilakukan, sebagai salah satu persyaratan standardisasi.
2. Untuk mendapatkan parameter farmakokinetik yang lebih sempurna, disarankan untuk memperhatikan faktor jenis kelamin kelinci.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel HC, Propovich NG, 1990; *Pharmaceutical dosage form and Drug Delivery system*; Philadelphia, London Lea & Febiger; pp 10-23; 91-132.
- Arif H A; 1989; *Penelitian khasiat minyak atsiri Kaempferia galanga L. sebagai analgesik pada mencit*; Skripsi pd. Fakultas Farmasi Unair.
- Biber A; Koh E, 1999; *Bioavailability of Ginkgolides and Bilobalide from Extracts of Ginkgo biloba using GC: MS*; *Planta Medika* 65, 192-193.
- Fuad AH, 1997; *Pemanfaatan Fraksi Minyak dari Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia Galanga L) untuk Produksi Asam Sinamat Secara Hidrolisis* ; Laporan Penelitian Lemlit Unair.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995; *Farmakope Indonesia Edisi IV*
- Didik Witjaksono F; 1996; *Standarisasi simplisia Kaempferiae galangae rhizoma dengan parameter kadar etil p-metoksi sinamat*; Skripsi; FF. Unair.
- Ganong W.F.,MD; 1991; *Rivew of Medical Physiology' Fisiologi Kedokteran; Edisi ke 10*; diterjemahkan oleh Adji Darma; EGC Penerbit buku Kedokteran, Cetakan ke III , JKT.
- Gennaro RA;1995; *Remington's The Science and Practice of Pharmacy*.
- Gibaldi M; 1984; *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*; third edit; Lea and Febiger, Philadelphia.
- Idayani Hadinoto; 1991; *Studi efektivitas in vitro dan absorpsi perkutan invivo etil-heksil-p-metoksi sinamat sebagai tabir matahari dalam sediaan krim*; Tesis S-2; Pasca Sarjana Unair.
- Ifansyah N., 1996; *Rekayasa Formulasi Etil Para Metoksi Sinamat Larut Air sebagai komponen utama Rimpang Kencur (Kaempferia Galanga L) dalam Bentuk Tablet Hisap Dan Larutan Terstandar*; Lap.Pen. Lemlit UNAIR
- Juniar Soerjono, 1990; *Optimasi dan aplikasi metoda HPLC untuk penetapan kadar norgestrel*; Tesis, Universitas Airlangga.

- Li Chang Ling, Wong Yin Yea; 1997; *The bioavailability of Ginkgolides in Ginkgo loba Extracts* ; *Planta Medika* 63, 563-365
- Lipper R.A.; 1999; *E pluribus product*; *Modern drug discovery*, January/ February 1999 American Chemical Society; 55-60
- Lukman Hakim; 1999; *Ketersediaan hayati relatif kinidin dan verapamil pada tikus setelah praperlakuan dengan lada putih*; *Majalah Farmasi Indonesia*; Vol.10, No.1 Th.1999; Fak. Farmasi UGM; Yogyakarta; 9-149
- Martin A, Swarbrick J, Cammarata A; 1983; *Physical Pharmacy*; Philadelphia, Lea & Febiger; pp 399-432.
- Mulja Hadi Santosa; 1997; *Metabolisme Metabolit Sekunder Tumbuhan Obat Indonesia Pada Kultur Sel Hepatosit Tikus Terisolasi*, Laporan Penelitian Lemlit UNAIR.
- Mutschler E; 1991; *Dinamika Obat, Buku ajar farmakologi dan toksikologi*; Ed. V; ITB-Bandung
- Perhipba Komisariat Yogyakarta; 1988; *Empon-empon dan tanaman lain dalam Zingiberaceae*; Seri Tanaman Obat; Perhimpunan Peneliti Bahan Obat Alam.
- Reynolds EFJ; 1982; *Martindale The Extra Pharmacopeia*; 28-th Ed.
- Rosmalawati; 1994; *Inventarisasi jamu yang mengandung kencur di beberapa toko di Bandung*; SN VI TOI, Pokjanas TOI-UNPAD, 41
- R.S. Syaiful A; 1997; komunikasi pribadi dengan Prof.dr. Haryono
- Sadono, 1999; *Identifikasi EPMS dalam plasma darah kelinci dengan HPLC*; orientasi tesis.
- Sadono, Tristiana E, Moegihardjo, 1999; *Mekanisme pelepasan Etil para metoksi sinamat pada matriks formula param beras kencur*; Laporan Lemlit UNAIR.
- Shargel L and Andrew BC; 1985; *Biofarmasetika dan farmakokinetika terapan*; Ed. II, Terjemahan 1990; Penerbit Univ. Airlangga, Sby.
- Shargel L and Andrew YU; 1998; *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*; Fourth Edit; Prentice-Hall International Inc.

- Shoim IM; 1996; *Standardisasi rimpang kencur dengan parameter kadar EPMS dan APMS*; Skripsi FFUA
- Smith-Grahame D.G. and J.K. Aronson; 1992; *Clinical pharmacology and drug therapy*; 2nd Edit; Oxford Univ.Press; New York Tokyo.
- Soeprapto M., 1999; *Imunologi untuk memahami standardisasi obat tradisional*; Kuliah S-2 Unair.
- Sticher O, 1993; *Quality of Ginkgo Preparation*; *Planta Medika* 59, 2-11
- Sulistia G Ganiswara, dkk; 1995; *Farmakologi dan terapi* ; Ed. 4; FKUI; Gaya Baru Jakarta.
- Suswini K; 1994; *Kaempferia galanga dalam ramuan jamu*; SN VI TOI, BP, Pokjanas TOI-UNPAD, 38
- Triwindono, dkk.; 1994; *Uji efek analgesik Etil-p-metoksi sinamat yang diisolasi dari rimpang kencur pada mencit dengan metode geliat*; SN VI TOI, BP, Pokjanas TOI-UNPAD, 43
- Wahjo Dyatmiko, Mulja Hadi Santosa, Achmad Fuad, Aniek S.B; 1996; *Validasi analisis Etil para metoksi sinamat secara densitometri dalam standardisasi simplisia rimpang kencur (Kaempferia galanga)*; Pusat Penelitian Obat Tradisional-UNAIR
- Yuhono JT; 1994; *Tataniaga kencur pada beberapa daerah sentra produksi di Indonesia*; SN VI TOI, BP, Pokjanas TOI-UNPAD, 33
- Yun Astuti Seminar; 1994; *Tanaman Kencur (Kaempferia galanga L)*; *Informasi efek farmakologi, fitokimia*; SN VI TOI, BP, Pokjanas TOI-UNPAD, 45